

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1963.

THÈSE

N° 968

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Thérèse GIACOMINI née HAMON

le 16 novembre 1932 à St Maixent l'Ecole (Deux-Sèvres)

Ancienne Externe des Hôpitaux de Paris.

Présentée et soutenue publiquement le 1963

DETERMINATION DU pH SANGUIN

PAR ELECTRODE DE VERRE

(Etude expérimentale des facteurs
influençant cette détermination).

Président :

Mr P. MOLLARET,

Professeur

EDITIONS A.G.E.M.P. - 8 RUE DANTE - PARIS V°

ANNÉE 1963.

THÈSE

N° —

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Thérèse GIACOMINI née HAMON

le 16 novembre 1932 à St Maixent l'Ecole (Deux-Sèvres)

Ancienne Externe des Hôpitaux de Paris.

Présentée et soutenue publiquement le

DETERMINATION DU pH SANGUIN

PAR ELECTRODE DE VERRE

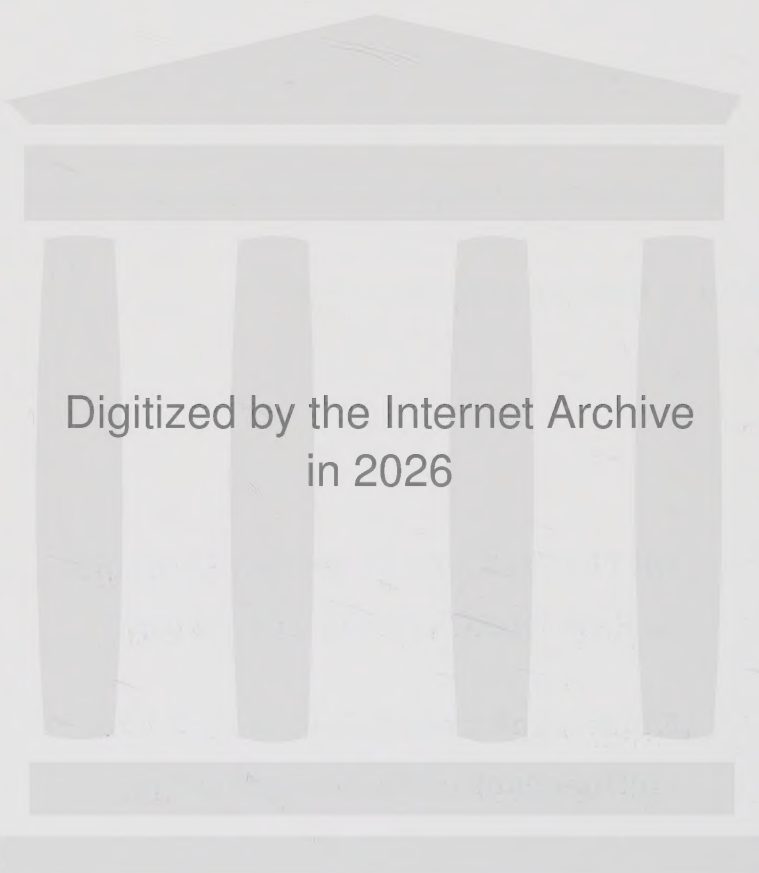
(Etude expérimentale des facteurs
influençant cette détermination).

Président :

Mr P. MOLLARET,

Professeur





Digitized by the Internet Archive
in 2026



https://archive.org/details/IA41546325_0060

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulouquet (P.), Mouquin (M.), Olivier (E.), Pasteur Valléry-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN LÉON BINET.

Membre de l'Institut

1^{er} ASSESSEUR Gaston CORDIER

2^e ASSESSEUR Paul CASTAIGNE

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	{ JAYLE (M.-F.)
	{ SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	JOANNON (P.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	N...
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	{ BINET (L.)
	{ BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	{ DOGNON (A.)
	{ DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Biochimie médicale	{ DESGREZ (P.)
	{ POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Pharmacologie	LÉVY (M ^{lle} J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	SOULIÉ (P.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon Cochin Cochin Hôtel-Dieu Pitié Saint-Antoine Salpêtrière Tenon LORTAT-JACOB (J.-L.) LEGER (L.) ABOULKER (P.) PATEL (J.) CORDIER (G.) GOSSET (J.) SICARD (A.) OLIVIER (Cl.) FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	GAUDART d'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	MATHEY (J.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)	DECOURT (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	LAMY (M.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	HUGUIER (J.)
Clinique gynécologique (Becca)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	CATHALA (J.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	DELAY (J.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	CASTAIGNE (P.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	MILLIEZ (P.)
Cliniques médicales	Boucicaut Broussais Cochin Cochin Hôtel-Dieu Lariboisière Pitié Saint-Antoine LENÈGRE (J.) JUSTIN-BESANÇON (L.) BROUET (G.) BARIÉTY (M.) SÈZE (S. de) DREYFUS (G.) KOURILSKY (R.) DEBRAY (G.) GENNES (L. de)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEROT (M.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	DAVID (M.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	GARCIN (R.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	LACOMME (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	MERGER (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque Foch (Suresnes) VARANGOT (J.) RENARD (G.) AUBRY (M.) LELONG (M.) MARIE (J.) BERNARD (E.) MIGHAUX (L.) COSTE (F.) DECHAUME (M.) ROUX (M.) LEMAIRE (A.) GAULTIER (M.) PADOVANI (P.) DOMART (A.) POILLEUX (F.) COUVELAIRE (R.) TURPIN (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laennec)	
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	
Clinique stomatologique (Pitié)	
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	
Clinique toxicologique	
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique	
Sémiologie médicale	
Sémiologie et clinique chirurgicales	
Clinique urologique (Necker)	
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	

b) Professeurs à titre personnel :

Médecine	BOUR (H.) LHERMITTE (F.) PEQUIGNOT (H.)
--------------------	---

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAÎTRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

MM.

Anatomie	CABROL (C.)
	COUINAUD (C.)
	GILLOT (C.)
	OLIVIER (G.) pr. s. ch.
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch.
	ABELANET (R.)
	CHOMETTE (G.)
	COUYGOU (Ch.), m. conf.
	NEZELOFF (Ch.)
	ORCEL (L.)
Anesthésiologie	PAILLAS (J.)
	KERN (E.)
Bactériologie	VOURC'H (G.)
	BARBIER (P.) pr. s. ch.
	CHRISTOL (D.)
	LE MINOR (L.)
Biochimie médicale	TOURNIER (P.)
	BAULIEU El. m. conf.
	BOURILLON (R.)
	CARTIER (P.)
	DREYFUS (J.-Cl.)
	GONNARD (P.)
Biologie appliquée à l'Éducation Physique et aux Sports	KRUH (J.)
	JEROME (H.)
Carcinologie	PLAS (F.)
	BOIRON (M.)
	DENOIX (P.)
	MATHE (G.)
Dermato-Syphiligraphie	SELIGMANN (M.)
	CIVATTE (J.)
Electro-Radiologie	DUPERRAY (B.)
	LEDoux-LEBARD (G.)
Hématologie	BESSIS (M.)
	BILSKI-PASQUIER (G.)
	DAUSSET (J.)
Histologie	DUHAMEL (G.)
	COUJARD (R.), pr. s. ch.
	MARQUIS (M.)
Hydrologie	RACADOT (J.)
	BESANÇON (F.)
Hygiène	CORNET (A.)
	BOYER (J.) pr. s. ch.
	BLANCHER (G.)
	CORRE-HURST (Hme L.)
Maladies infectieuses	SAPIN-JALOUSTRE (H.)
	BASTIN (R.) Pr. s. ch.
Médecine légale	DUPONT (V.)
	FOURNIER (E.)
	GUENIOT (M.)
Médecine du travail	HADENGUE (A.)
	ALBAHARY (G.)
Neuro-chirurgie	PERTUISSET (B.)
Neurologie	LAPRESLE (J.)
	GRANJON (A.)
Obstétrique	HERVET (E.)
	LE LORIER (G.)
	LEVY (J.)
	MORIN (P.)
Ophtalmologie	MUSSET (R.)
	ROBEY (M.)
	SENEZE (J.)
	SUREAU (C.)
	THOYER-ROZAT (J.)
	BRÉGEAT (P.)
	DUBOIS (A.)
	SARAUX (H.)

MM.

Orthopédie	JUDET (R.)
	MEARY (R.)
	POSTEL (M.)
	RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.)
	PIALOUX (P.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.)
	LAPIERRE (J.)
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.)
	BINET (J.-P.)
	GERBONNET (G.)
	CHATELIN (C.-L.)
	DUBOST (Ch.)
	DUBOST (Cl.)
	FAUREL (J.)
	FLABEAU (F.)
	GARBAY (M.)
	GARNIER (H.)
	(Cl. de) GAUDART-d'ALLAINES
	GERMAIN (A.)
	LATASTE (J.)
	LOYGUE (J.)
Pathologie exotique	MERCADIER (M.)
	NATALI (J.)
	PELLERIN (D.)
	PERROTIN (J.)
Pathologie expérimentale	ROBERT (H.)
	THOMERET (G.)
	SCHNEIDER (J.)
	BENHAMOU (J.-P.)
Pathologie médicale	BERTHAUX (P.)
	BOIVIN (P.)
	CROSNIER (J.)
	HARTMANN (L.)
	LÖEPER (J.) Pr. s. ch.
	MAURICE (J.)
	MIKOL (Cl.)
	RICHET (G.)
	AUSSANNAIRE (M.)
	BOUVIER (J.)
Pédiatrie-Puériculture	BOUVRAIN (Y.)
	BRICAIRE (H.)
	BRISSAUD (H.)
	BROCARD (H.)
	BUGE (A.)
	CATINAT (J.)
	CHRÉTIEN (J.)
	COBLENTZ (B.)
	CONTAMIN (F.)
	COURY (C.)
	ÉTIENNE (J.-P.)
	FREZAL (J.)
	FRITEL (D.)
	HENNEQUET (A.)
	HIMBERT (J.)
	HOUSSET (E.)
	LAROCHE (Cl.)
	LESOBRE (R.)
	LEVEQUE (B.)
	MACREZ (C.)
	MOREAU (L.)
	NICK (J.)
	ROYER (P.)
	TOURNEUR (R.)
	WOLFROMM (R.)
	LAFOURCADE (J.)
	LEPERCQ (G.)
	MANDE (R.)
	NOZZICONACCI (P.)
	OLONOVSKI (C.)
	ROSSIER (A.)
	VIALATTE (J.)

MM.		MM.	
Pharmacologie	{ BOISSIER (J.) LECHAT (P.) BARRES (G.) DEJOURS (P.) pr. s. ch.	Psychiatrie	PICHOT (P.)
Physiologie	{ DURAND (J.) GIRARD m. conf. HUGELIN (A.) SCHERRER (J.) CHANTEUR (J.) GOUGEROT (L.), m. conf. pr. s. ch.	Psychiatrie infantile	{ DENIKER (P.) DUCHE (D.) FLAVIGNY (H.)
Physique médicale	{ GREMY (F.) m. conf. MILHAUD (G.) PELLERIN (P.) ROUCAYROL (J.-Cl) TUBIANA (M.) m. conf.	Rhumatologie	DELBARRE (F.) pr. s. ch.
Pneumo phtisiologie	{ KREIS (B.) MEYER (A.) RENAULT (P.)	Stomatologie	{ CERNEA (P.) CHAPUT (M ^{me} A.) m. c. agr. GRELLET (M.)
		Thérapeutique	{ CHASSAGNE (P.) MARCHE (J.)
		Urologie	{ AUVERT (J.) MOULONGUET (A.) QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

MM.		MM.	
Anatomie	DEBEYRE (J.)	Clinique ophtalmologique	{ DESVIGNES (P.) OFFRET (G.)
Clinique chirurgicale	VERNE (J.-M.)	Clinique pédiatrique et pué- riculture	LAPLANE (R.)
Clinique médicale	{ PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)	Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique obstétricale	{ GRASSET (J.) MAYER (M.)	Clinique urologique	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

V. - CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)	{ BOLTANSKI (E.) LAUNAY (C.)
Secrétaire principal	Mlle CHAINTREUIL (G.)	
Conservateur en Chef de la Bibliothèque	{ M. le Docteur HAHN (A.)	
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine		
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)	
Bibliothécaire	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlle LAURENT (H.)	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mes parents

Que je ne saurai jamais assez remercier
de tout ce qu'ils ont fait pour moi.

A mon mari

A mon fils

A mes frères

A la mémoire de mes grands parents

A mes beaux-parents

A tous les miens et à tous mes amis.

A Monsieur le Professeur P. MOLLARET

Professeur de la Clinique des Maladies Infectieuses
Médecin de l'Hôpital Claude Bernard
Chef de Service à l'Institut Pasteur.

Qui nous a, pendant plusieurs années,
fait profiter de la clarté de son ensei-
gnement et nous a toujours témoigné
tant de sollicitude.

Nous le remercions de nous avoir per-
mis de réaliser ce travail et de nous
avoir fait le grand honneur de présider
cette thèse.

En témoignage de notre profonde recon-
naissance.

A Monsieur J.J. POCIDALO

Chef de Laboratoire à la Faculté
Maître de Recherches à l' I.N.H.
Directeur de l'Unité de Recherches de réanimation
respiratoire (Hôpital Claude-Bernard).
Assistant de Biologie des Hôpitaux.

Il fut l'inspireur de cette thèse.

Avec dynamisme, il nous a guidé pas à pas
dans son élaboration.

Nous le remercions de son amical soutien.

A Mademoiselle le Docteur M.C. BLAYO

Chef de Laboratoire à la Faculté
Attachée de Recherches au C.N.R.S.
Assistante de Biologie des Hôpitaux.

Elle a mis son esprit précis et critique
et ses vastes connaissances à notre dis-
position, lors de la rédaction de cet ouvra-
ge.

Nous lui sommes reconnaissante de son
indéfectible amitié.

A Monsieur le Docteur M. RAPIN

Professeur Agrégé
Médecin Assistant des Hôpitaux

Qu'il trouve ici l'expression de notre
gratitude pour l'aide qu'il nous a ap-
portée en toutes circonstances.

A Monsieur le Docteur VIC DUPONT

Professeur Agrégé

A Monsieur le Docteur GOULON

Médecin des Hôpitaux

A Monsieur le Docteur LISSAC

Professeur Agrégé
Médecin Assistant des Hôpitaux

A Monsieur le Docteur LIOT

Médecin Assistant des Hôpitaux.

Nous les remercions de leur enseigne-
ment.

A Mademoiselle D. HELFGOTT

Ancienne interne en Pharmacie
Stagiaire de Recherches à l' I.N.H.

Nous lui devons une grande partie de
l'étude expérimentale de ce travail.

Qu'elle trouve ici l'expression de notre
reconnaissance.

A Claude GAUDEBOUT

Dont les connaissances statistiques et
mathématiques nous ont été si utiles.

En gage d'amitié.

A Madame L. LACHIA

Sa compétence technique est au-dessus
de tout éloge. Nous la remercions de
l'avoir mise à notre disposition.

A Mademoiselle M.J. MOREL D' ARLEUX

Sa gentillesse et son dévouement nous
ont été d'un précieux secours.

Et à tout le Laboratoire de la Clinique des Maladies
Infectieuses

Qui avec un magnifique esprit d'équipe
a contribué à l'élaboration de cette
thèse.

A Monsieur le Docteur RUBENS-DUVAL

Médecin des Hôpitaux

Qui a toujours fait preuve de tant de
bonté à notre égard.

A Monsieur le Docteur VILLIAUMEY

Médecin des Hôpitaux

Que nous ne saurons jamais assez remer-
cier de l'aide qu'il nous apporte à tout
moment.

A Monsieur le Docteur ABAZA

Médecin Assistant des Hôpitaux de Paris

Médecin-Chef de l'Hôpital de Villeneuve St. Georges

Pendant deux années d'internat dans son
service, il nous a, avec simplicité, fait
profiter de ses connaissances encyclopé-
diques.

A Bernard NOLOT

Assistant de l'Hôpital de Caen.

En gage de longues années d'amitié.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux :

Monsieur le Professeur SICARD

Monsieur le Professeur Agrégé BROCARD

Monsieur le Docteur TANRET

Monsieur le Docteur NETTER

Monsieur le Docteur BOUSSER

Monsieur le Docteur MALLET

Monsieur le Professeur J. BERNARD

Monsieur le Professeur MOLLARET

Monsieur le Docteur RUBENS-DUVAL

Monsieur le Docteur GOUDAL

Monsieur le Docteur ABAZA

Monsieur le Docteur PAUTRAT

Monsieur le Docteur P. OURY

1ère Partie

NOTIONS GENERALES SUR LE pH ET SA DETERMINATION

Dans cet exposé qui se veut essentiellement technique nous ne ferons que rappeler quelques notions élémentaires sur le pH.

Qu'est-ce que la mesure du pH ?

C'est la mesure de l'acidité ou de l'alcalinité d'un milieu. En effet un dosage titrimétrique dose l'acidité totale mais en biochimie, ce qui importe c'est la concentration en ions hydrogène libres. Un acide comme l'acide chlorhydrique est dit fort car complètement dissocié en ions H^+ et Cl^- alors que l'acide acétique sera dit faible car peu dissocié.

Le rapport quantitatif entre acide dissocié ou non est exprimé par la relation

$$\frac{[CH^3COO^-] \times [H^+]}{[CH^3COOH]} = K$$

K étant une constante qui caractérise l'acide en question.

L'acidité peut donc être exprimée par la concentration en ions hydrogène H^+ , mais comme cette concentration varie en pratique de 1 (acide fort) à 10^{-14} (base forte) sa mesure est malaisée. C'est pourquoi SORENSEN a introduit le symbole pH qu'exprime la concentration en ions H^+ sous forme de son cologarithme

$$\boxed{pH = - \log [H^+]}$$

On a ainsi déterminé une échelle de mesure de 0 à 14 au lieu de 1 à 10^{-14} . Lorsque le pH diminue d'une unité la concentration en ions hydrogènes a augmenté dix fois.

L'alcalinité pourrait être mesurée de la même façon. Elle est en effet liée à la concentration en ions OH^- et on pourrait définir des unités de pOH de la même façon que les unités de pH. Cependant dans les solutions aqueuses la somme des pH et pOH est toujours constante (environ 14) de sorte que l'échelle des pH peut être seule utilisée.

$$[\text{H}^+] \quad 10^0 \quad \quad \quad 10^{-7} \quad \quad \quad 10^{-14}$$

$$\text{pH} \quad 0 \quad \quad \quad 7 \quad \quad \quad 14$$

$$\text{pOH} \quad 14 \quad \quad \quad 7 \quad \quad \quad 0$$

acide neutre alcalin

La neutralité se caractérise par le pH : 7 (la concentration d'ions H^+ est alors égale à celle des ions OH^- soit 10^{-7}); c'est le pH de l'eau pure.

Lorsqu'on ajoute un acide ou une base l'équilibre entre ions H^+ et OH^- est rompu (car la concentration en ions H^+ augmente ou décroît) mais le produit des concentrations en ions H^+ et OH^- demeure constant, ce qui revient à dire que la somme de pH et pOH reste égale à 14.

Tout pH inférieur à 7 traduira une prédominance des ions H^+ , c'est-à-dire l'acidité du milieu.

Tout pH supérieur à 7 traduira une prédominance des ions OH^- c'est-à-dire l'alcalinité.

Le pH sanguin - Sa régulation

Normalement le pH sanguin artériel est situé entre 7,38 et 7,42 et les variations les plus importantes observées en pathologie ne dépassent pas 6,8 et 7,8.

Pour assurer la régulation de l'équilibre acido-basique, plusieurs systèmes vont entrer en jeu.

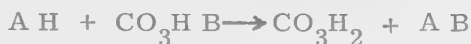
- les tampons plasmatiques et globulaires,
- les tampons cellulaires,
- la ventilation,
- le rein.

1 - Les systèmes tampons.

Sont constitués :

- soit par le mélange d'un acide faible et de son sel avec une base forte.
- soit par le mélange d'une base faible et de son sel avec un acide fort.

Le type habituel des systèmes tampons est constitués par l'association d'un acide faible et de son sel (par exemple $\text{CO}_3\text{H}_2/\text{CO}_3\text{HB}$ où $\text{B} = \text{Na}$ ou K). Si un acide fort est déversé dans le milieu, le système réagit selon l'équation :



Il s'est ainsi formé un sel et de l'acide carbonique, acide faible peu dissocié. Il y a donc moins d'ions H^+ que l'acide A H n'en avait apporté. Parallèlement on va assister à une chute du taux des bicarbonates.

De même en face d'une agression alcaline (BOH) le système tampon va entrer en jeu pour former :



Les ions OH^- vont disparaître et la réserve en bicarbonates s'accroît.

Etudions de plus près le mécanisme d'un système tampon $\text{RH} + \text{RB}$.

L'acide faible est dissocié selon la réaction :



Et si l'on applique la loi d'action de masse on a :

$$(2) \quad \frac{[\text{H}^+][\text{R}^-]}{\text{RH}} = K$$

ou

$$(3) \quad [\text{H}^+] = K \frac{[\text{RH}]}{[\text{R}^-]}$$

L'apport d'ions R^- par cet acide faible donc peu dissocié est négligeable par rapport à la quantité libérée par le sel RB qui, lui, est complètement dissocié.

On peut donc remplacer dans l'équation la concentration en ions R^- par celle du sel et l'on a :

$$[H^+] = \frac{K [RH]}{[RB]}$$

qui sous forme logarithmique donne :

$$pH = pK + \log \frac{[RB]}{[RH]}$$

2 - Les principaux systèmes tampons du sang, sont :

- les systèmes acide carbonique - bicarbonates
- les systèmes protéine - protéinates
- les systèmes phosphates monobasique et dibasique.
- et les tampons globulaires : système Hb/HbO²

a) Le système acide-carbonique bicarbonates.

Joue un rôle majeur.

Si on applique l'équation d'HENDERSON-HASSELBACH à la dissociation de l'acide carbonique on peut écrire :

$$pH = pK + \log \frac{[CO_3HB]}{[CO_3H_2]}$$

où $pK = 6,093$ pour un pH de $7,40$ et une température de 37° (SEVERINGHAUS). Selon la loi de HENRY la gaz carbonique dissous non combiné est proportionnel à la pression partielle du gaz carbonique dans le mélange gazeux en équilibre avec la solution considérée et pour 100 ml de plasma il est de :

$$[CO_3H_2] = 0,0686 \text{ pCO}_2 \text{ (exprimée en mm de Hg).}$$

Donc

$$pH = pK + \log \frac{[CO_3HB]}{0,0686 \text{ pCO}_2}$$

Pratiquement le rapport $\frac{[CO_3HB]}{0,0686 \text{ pCO}_2}$ de $\left(\frac{20}{1}\right)$ varie peu et le pH

reste constant à l'état normal et dans de nombreux états de tendance à l'acidose et à l'alcalose. Les variations de l'un des termes sont "compensées" par les variations correspondantes de l'autre.

L'acidose ou l'alcalose sont dites gazeuses si le trouble initial porte sur la $p\text{CO}_2$ du plasma.

L'acidose ou l'alcalose sont dites fixes si le trouble initial est une modification des bicarbonates.

Lorsque les modifications de l'un des termes deviennent trop importantes la compensation devient insuffisante, le rapport ne reste plus constant et le pH varie.

b) Les tampons phosphates.

Le système phosphate mono sodique - disodique où le phosphate monosodique agit comme un acide faible joue un rôle plus accessoire dans l'équilibre acido-basique sanguin. On peut cependant tout aussi bien définir le pH sanguin à partir du système phosphate monométallique phosphate bimétallique.



d'où

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{PO}_4\text{HM}^-]}{[\text{PO}_4\text{H}_2\text{M}]}$$

pK est ici égal à 6,82

et dans le sang normal où

$$\frac{[\text{PO}_4\text{HM}^-]}{\text{PO}_4\text{H}_2\text{M}} = 4$$

$$\text{pH} = 6,82 + \log 4 = 7,42.$$

c) Dans le système protéine protéinate de sodium

Les protéines amphotères se comportent comme des acides faibles.

d) Les tampons globulaires.

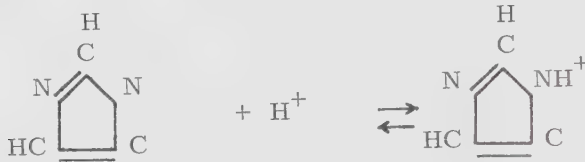
La molécule d'hémoglobine possède un pouvoir tampon car elle comporte :

- des groupes acides tels les groupes carboxyles terminaux d'acides aminés comme l'acide aspartique.
- des groupes alcalins tels les groupes aminés de la lysine ou de l'arginine.

Les groupes carboxyles ($-COOH$) libèrent des ions hydrogène dans une solution alcaline et forment des anions ($-COO^-$).

Les groupes basiques ($-NH_2$) agissent en captant des ions hydrogène en solution acide et en formant des cations ($-NH_3^+$).

La plus grande part de l'effet tampon est assumé par les groupes imidazoles de l'histidine.



L'imidazole est en liaison avec l'atome de fer transporteur de la molécule d' O_2 et le pouvoir tampon est affecté par l'état de ce dernier.

La réduction de l'oxyhémoglobine transforme l'hémoglobine en un acide faible et soustrait des ions H^+ à la solution. Inversement l'oxygénation de l'hémoglobine réduite transforme l'hémoglobine en un acide plus fort et libère des ions H^+ dans la solution.

D'autre part

Le gaz carbonique réagit avec les groupes aminés de l'hémoglobine pour former des composés carbaminés.



La quantité de composés formés avec l'hémoglobine réduite est plus grande que celle formée avec l'oxyhémoglobine.

En traversant les tissus l'oxyhémoglobine abandonne de l'oxygène et les tissus cèdent du gaz carbonique au sang. Les ions hydrogène formés par l'ionisation de l'acide carbonique se combinent avec les groupes tampons de l'hémoglobine et l'orientent vers l'acidité mais en même temps une certaine quantité d'hémoglobine est réduite et la réduction de l'hémoglobine affaiblit l'aci-

dité de la molécule.

On conçoit ainsi l'importance de ce jeu des tampons globulaires.

3 - Rôle du rein

Normalement le rein doit assurer l'élimination d'un excès d'anions,

- en excréant une urine plus acide que le plasma grâce à un échange ionique au niveau des tubes entre les ions H^+ et les bases fixes surtout Na^+ et K^+ .
- en sécrétant de l'ammoniaque qui sert à neutraliser les acides forts.

En cas d'acidose plasmatique, le rein va s'efforcer d'éliminer l'excès d'acide.

- le pH urinaire sera très acide
- on retrouvera moins de bicarbonates dans les urines.
- l'excrétion des phosphates sera prédominante en monosodiques.
- l'ammoniurie élevée.

En cas d'alcalose l'excès de bases sera éliminé

- le pH urinaire alcalin
- les bicarbonates en abondance
- l'excrétion prédominante de phosphates disodiques
- l'ammoniurie basse

en témoignent.

4 - Rôle du poumon.

Normalement la ventilation alvéolaire assure la constance de la fraction dissoute sanguine du gaz carbonique.

L'équation d'HENDERSON-HASSELBACH permet de comprendre l'intérêt considérable de ce fait puisque le rapport bicarbonates/acide carbonique conditionne la concentration en H^+ . La régulation physiologique du pH met en jeu la ventilation chaque fois qu'il existe des troubles métaboliques qui vont modifier le taux des bicarbonates :

C'est ainsi qu'une acidose métabolique entraînant une bais-

se des bicarbonates engendre une hyperventilation compensatrice avec réduction de la $p\text{CO}_2$; cette dernière permet la stabilisation de la concentration en H^+ .

Une alcalose métabolique avec élévation des bicarbonates est susceptible d'entraîner une réduction ventilatoire compensatrice permettant d'amortir les variations de pH ; mais dans ce cas la compensation ventilatoire est tardive et incomplète.

Les désordres pathologiques ventilatoires, s'inscrivent sur l'équilibre humoral acido-basique : toute réduction de la ventilation crée une hausse de la $p\text{CO}_2$ avec acidification du pH, tandis qu'une hyperventilation engendre une baisse de la $p\text{CO}_2$ avec alcalose sanguine.

Hypo et hypercapnie entraînent des variations de $\left[\text{H}^+\right]$ qui vont mettre en jeu des mécanismes compensateurs métaboliques ayant pour but d'amortir les variations de pH.

Au total donc, les divers processus homéostasiques conjuguent leurs efforts afin de maintenir le pH sanguin dans les limites physiologiques.

Mais en réanimation, d'importants désordres peuvent se produire et l'on conçoit l'intérêt pour les corriger, d'une détermination précise de la moindre altération du pH sanguin que la clinique serait bien incapable de déceler.

Il va sans dire que cette mesure ne devra pas être isolée mais s'associer à une détermination de la $p\text{CO}_2$ et du CO_2 total pour apprécier l'origine ventilatoire ou métabolique des troubles.

DETERMINATION DU pH SANGUIN

Quelles sont les méthodes dont dispose le biologiste pour évaluer le pH sanguin ?

I. - Des méthodes directes

a) - La méthode colorimétrique.

S'appuie sur le fait que certains composés organiques en solution ont une coloration différente selon le pH.

L'expression la plus simple en est le test au papier de tournesol qui vire au rose en milieu acide, au bleu en milieu alcalin. Entre ces deux teintes l'indicateur passe par toutes les nuances intermédiaires - cet intervalle s'appelle la zone de virage.

La méthode habituelle consiste à déterminer l'ordre de grandeur du pH à mesurer. Pour cela on utilise un indicateur universel c'est-à-dire dont la zone de virage couvre une très large échelle de pH.

Lorsque la valeur approximative est déterminée on peut procéder à une détermination plus précise par choix convenable de l'indicateur et on compare avec des gammes de solutions étalons tamponnées dont les pH sont bien déterminés.

L'utilisation de cette méthode se limite aux liquides limpides non colorés.

Il existe également des bandes de papier imprégnées d'indicateurs qui, au contact de la solution à tester, prennent une teinte variable suivant le pH et qu'on peut comparer à une gamme étalon.

De toute façon la méthode colorimétrique est, on le conçoit, très imprécise et ne peut être appliquée à la détermination du pH sanguin.

b) - La méthode électrométrique.

repose sur le fait que, plongées dans un liquide, certaines électrodes (à hydrogène, quinhydrone, antimoine et plus récemment l'électrode de verre) développent une différence de potentiel qui dépend de la concentration en ions hydrogène du liquide.

Nous exposerons ultérieurement les bases théoriques de cette détermination.

II. - Des méthodes indirectes

Elles découlent de l'équation d'HENDERSON-HASSELBACH. Mais la mesure de la pCO_2 n'étant pas plus facile que la mesure du pH, cette méthode n'est habituellement pas utilisée.

Au total donc, seule est à retenir actuellement la méthode électrométrique.

BASES THEORIQUES DE LA MESURE ELECTROMETRIQUE DU pH.

Lorsque l'on a, de part et d'autre d'une cloison poreuse, deux solutions de sel d'un même métal à des concentrations en ions métalliques différentes C_1 et C_2 et que l'on place dans chacune de ces deux solutions une électrode en métal identique à celui du sel, il se produit entre les 2 électrodes une différence de potentiel E (en volts) telle que :

$$E = \frac{RT}{nF} \log_n \frac{C_1}{C_2}$$

R = constante des gaz parfaits.

T = température en $^{\circ}K$ des solutions.

n = valence du métal

F = charge d'un équivalent gramme = 96,500 coulombs.

Lorsque le métal du sel en solution est de l'hydrogène et que les électrodes sont des électrodes dites à hydrogène

$$E = \frac{RT}{nF} \log_n \frac{\{H^+\}_1}{\{H^+\}_2}$$

$n = 1$

et en logarithmes décimaux on obtient la relation :

$$E = \frac{2,3026 \times RT}{F} \log \frac{[H^+]_1}{[H^+]_2}$$

si la première solution est de concentration égale à 1 (c'est-à-dire normale)

$$E = \frac{2,3026 RT}{F} \log \frac{1}{[H^+]_2}$$

soit

$$E = \frac{2,3026 RT}{F} \text{ pH}$$

et en remplaçant R et F par leurs valeurs ($R = 8,32 - F = 96.500$)

$$E = 19,83 \times 10^{-5} T \text{ pH}$$

soit à 20°

$E_{\text{volts}} = 0,058 \text{ pH.}$

Il y a donc proportionnalité entre le pH de la solution et la différence de potentiel développée entre les électrodes.

On peut donc, connaissant la température de la solution, mesurer le pH.

En fait il faut bien savoir que lorsque les solutions ne sont plus idéales, les lois (telle la loi d'action de masse) ne doivent plus faire appel à la notion de concentration mais à la notion d'activité, concentration c et activité a étant liées par la relation :

$a = c f$ où f est appelé "coefficient d'activité".

- 1) si le corps en solution n'est pas un électrolyte $f = 1$
- 2) s'il s'agit d'ions en solution on a $f < 1$.

La différence causée par l'introduction de cette notation est faible pour des solutions diluées comme les liquides biologiques. C'est pourquoi on peut en pratique la négliger.

LES ELECTRODES.

Dans la pile que nous venons d'étudier l'électrode qui plonge dans la solution normale en ions H^+ est appelée électrode

de référence.

L'électrode plongeant dans la solution dont on veut déterminer le pH est appelée électrode de mesure.

En fait l'électrode à hydrogène est d'un emploi difficile, aussi a-t-on mis au point d'autres électrodes de référence et d'autres électrodes de mesure. Nous les étudierons tour à tour.

1 - L'électrode à hydrogène

L'électrode uniquement constituée d'hydrogène n'étant pas réalisable on utilise en pratique une lame de platine sur laquelle on envoie un courant d'hydrogène. Cette électrode est représentée sur la figure (1).

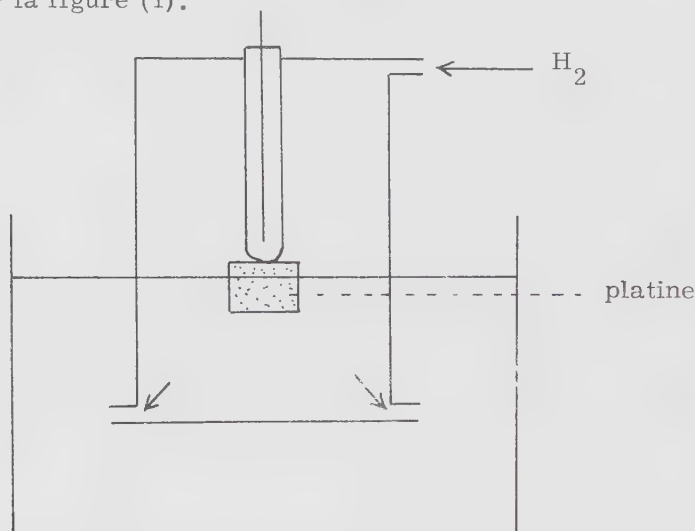


Fig. 1 Electrode à hydrogène

L'hydrogène gazeux est absorbé par la lame de platine sous forme atomique. L'excès d'ions H^+ s'échappe par les orifices latéraux et passe en solution.

L'électrode "normale" à hydrogène est celle qui trempe dans une solution normale en ions H^+ ou plus précisément, l'électrode pour laquelle la pression de l'hydrogène gazeux est de 1 atmosphère et la concentration $[H^+]$ de la solution en ions hydrogène de 1 ion-gramme par litre.

Cette électrode normale est utilisable comme électrode de référence.

L'électrode à hydrogène trempée dans la solution à tester peut également en permettre la mesure.

- En fait
- les difficultés d'appareillage
 - la lenteur de l'établissement de la valeur définitive de la différence de potentiel,
 - le fait que l'électrode doit être agitée constamment
 - que le noir de platine est facilement attaqué par un grand nombre de solutions,

lui font préférer d'autres électrodes de référence et de mesure.

2 - Electrodes de référence.

Il existe des électrodes de référence au chlorure d'argent mais la plus généralement utilisée est l'électrode au calomel. Elle est constituée d'un fil de platine amalgamé dans une pâte composée de mercure recouvert de calomel (Cl_2Hg_2) en contact avec une solution saturée de chlorure de potassium. La substitution de l'électrode au calomel à l'électrode normale d'hydrogène a pour effet d'introduire une différence de potentiel constante E_O à savoir le potentiel de l'électrode au calomel par rapport à l'électrode normale d'hydrogène. L'expression de la différence de potentiel mesurée va devenir.

$$E = E_O + \frac{2,3026 RT}{F} \text{ pH}$$

la valeur de E_O est fonction de la température et de la concentration du chlorure de potassium. A 25° elle est de 0,2464 volt pour la solution saturée de ClK, de 0,3376 pour une solution de ClK $\frac{N}{10}$

Il est à noter que, si l'on utilise le chlorure de potassium comme connexion électrique, c'est parce qu'il ne donne presque pas de potentiel de diffusion (l'ion K^+ et l'ion Cl^- étant de poids sensiblement égal et migrant à la même vitesse).

3 - Electrodes de mesure.

L'électrode à hydrogène étant là encore d'un emploi difficile elle a été remplacée par de nombreuses autres électrodes.

a) L'électrode à quinhydrone.

est active grâce au dédoublement de l'hydroquinone en quinone et hydrogène.

b) L'utilisation de l'électrode à antimoine

résulte du fait que, si l'on place de l'oxyde d'antimoine dans une solution contenant des ions H^+ , il se libère des ions Sb^{+++} et de l'eau et la concentration en ions antimoine de la solution est fonction de la concentration en ions H^+ . Mesurer le pH revient donc à mesurer les ions Sb^{+++} de la solution. Cette électrode n'est utilisable que pour des pH de 2 à 7.

En pratique l'électrode employée dans la mesure du pH sanguin est :

c) L'électrode de verre.

Cette électrode est constituée d'un ballon de verre mince rempli d'une solution de pH connu. Dans la solution plonge un fil métallique (Fig. 2).

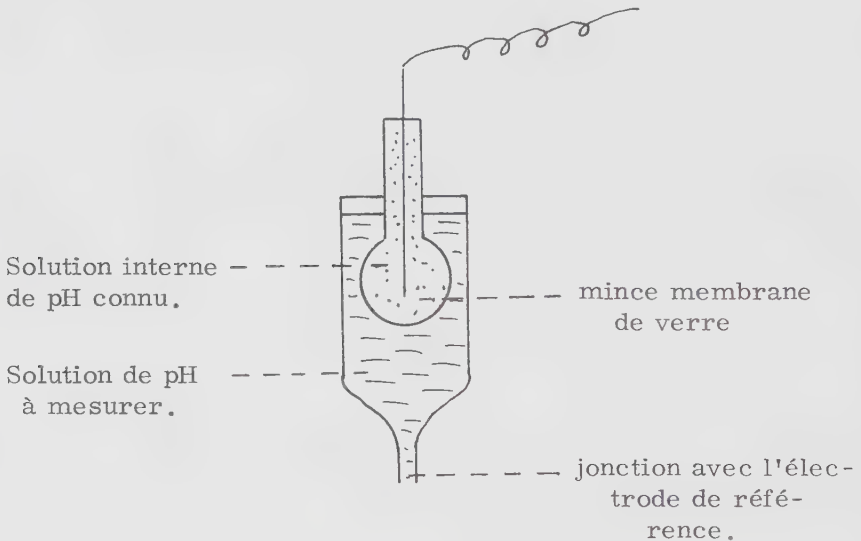


Fig. 2 Electrode de verre.

Principe

L'élément actif est le mince film de verre spécial. On interprète son fonctionnement comme dû à l'échange des ions H^+ des solutions avec les ions alcalins du verre ; cet échange varie avec la concentration en ions H^+ des solutions. E_{verre} est donc assimilable à un potentiel de membrane.

En fait, alors que E_{verre} devrait être nul lorsque les pH des solutions intérieure et extérieure sont égaux, on observe tou...

jours une différence de potentiel résiduel dit "d'asymétrie" K. De ce fait E_{verre} est une fonction linéaire de la différence de pH des solutions de la forme

$$E_{\text{verre}} = K + \frac{2,3026 RT}{F} (pH_1 - pH_2)$$

où pH_1 est le pH connu de la solution interne et pH_2 le pH de la solution à tester. Lorsque l'électrode de référence est une électrode au calomel,

$$E = K + E_O + \frac{2,3026 RT}{F} (pH_1 - pH_2)$$

Le potentiel d'asymétrie dépend de la forme et de la composition du verre. Pour le déterminer, il suffit de mesurer la différence de potentiel existant entre l'électrode de verre et l'électrode de référence, dans une solution tampon de pH connu. Ainsi, des deux côtés de la membrane de verre, se trouvent des solutions de pH connu.

Les qualités à exiger d'une électrode de verre sont :

- sa finesse
- une surface uniforme
- l'absence de craquelures.

Les deux côtés doivent être complètement immergés. Elle devra être gardée à température constante ; le verre qui la constitue devra avoir une résistance relativement faible à l'action chimique. La résistance interne de l'électrode étant très grande, le courant électrique débité sera donc faible. Il faudra par conséquent employer des appareils de mesure très sensibles.

Les avantages de cette électrode sont :

- sa large échelle de mesure (elle est utilisable pour des pH de 0 à 10).
- sa bonne sensibilité.

Les inconvénients sont essentiellement sa grande fragilité et la résistance élevée de la membrane.

4 - Potentiel de jonction.

L'expression de la force électro-motrice

$$E = K + E_O + \frac{2,3026 RT}{F} (\text{pH}_1 - \text{pH}_2)$$

est valable dans une cellule électrochimique ne comportant pas de liquide de jonction.

Mais les cellules les plus courantes emploient en règle un liquide de jonction (le plus souvent du chlorure de potassium saturé) et l'expression de la différence de potentiel va devenir :

$$E = K + E_O + \frac{2,3026 RT}{F} (\text{pH}_1 - \text{pH}_2) + E_j.$$

où E_j représente le potentiel de jonction liquide qui est à la fois non calculable et variable.

MESURES DE LA DIFFERENCE DE POTENTIEL.

Deux méthodes sont employées :

- a) la méthode d'opposition de POGGENDORF
- b) la méthode du millivoltmètre électronique.

a) - La méthode d'opposition.

repose sur un principe physique simple.

Deux générateurs de force électromotrice E et E' sont montés en opposition (Fig. 3).

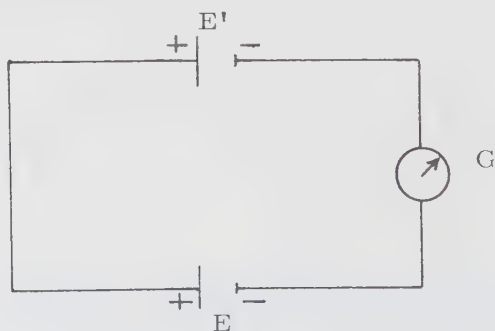


Fig. 3 Principe de la méthode d'opposition.

Sur le circuit est interposé un galvanomètre qui enregistre la différence de potentiel $E - E'$. Lorsque $E = E'$ il n'y a pas de déviation du galvanomètre. Si E est différent de E' il se produit une déviation représentative du courant qui va de E vers E' ou inversement.

La différence de potentiel réglable est obtenue au moyen d'un potentiomètre.

Le procédé le plus simple répond au schéma de la figure 4.

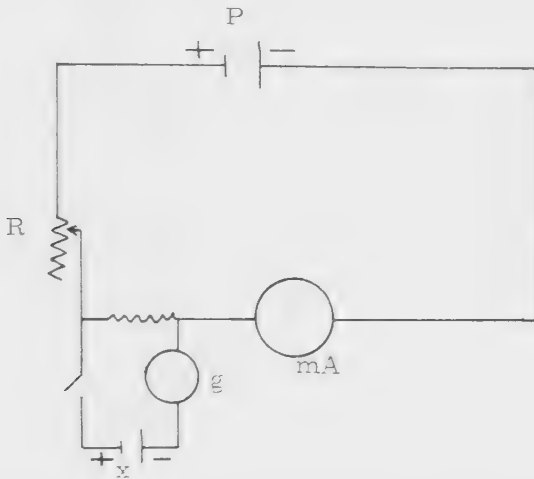


Fig. 4

Principe du montage potentiométrique pour la méthode d'opposition.

Le courant d'un accumulateur P , passe dans un rhéostat à variation fine R , dans une faible résistance r et dans un milli-ampèremètre mA . Aux bornes de r existe la différence de potentiel $r i$ réglable à volonté puisqu'on peut faire varier i par le jeu de R . Cette force électromotrice est opposée à la force électromotrice x à mesurer. L'égalité est réalisée quand le galvanomètre ne dévie pas. Lorsque la force électromotrice à mesurer est produite par un générateur de très grande résistance interne cette méthode est insuffisante et l'on emploie en général le tube électromètre.

Ce millivoltmètre électronique est une lampe triode constituée par un filament incandescent, une plaque portée à un potentiel positif et une grille ; nous l'avons schématisé sur la figure (5). ci-après.

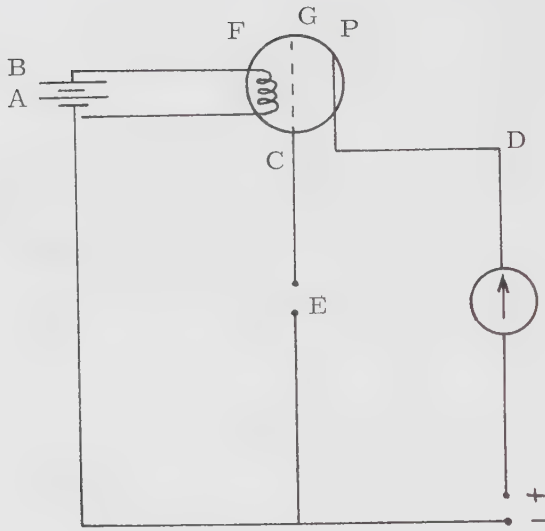


Fig. 5 Le millivoltmètre électronique.

La lampe comprend trois circuits :

- 1) un circuit de chauffage entre A et B qui porte le filament F à l'incandescence.
- 2) un circuit de plaque entre A et D.
- 3) un circuit grille entre A et C.

Le courant de plaque et le courant de grille dépendent du potentiel de la grille.

Une petite charge positive ou négative portée sur la grille entraîne une variation d'intensité considérable du courant plaque. Si l'on place sur le circuit plaque un galvanomètre celui-ci déviara en fonction de la différence de potentiel appliquée à la grille.

On applique donc la différence de potentiel à mesurer en E et on lit directement sa valeur après amplification sur le galvanomètre (le cadran de celui-ci ayant été étalonné préalablement

en mV ou en unités pH).

Quelle que soit la méthode utilisée les appareils de mesure comprennent toujours :

- un potentiomètre permettant de régler le 0 de l'appareil lorsque la différence de potentiel est égale à 0.
- un potentiomètre permettant de compenser le potentiel asymétrique de l'électrode de verre.
- un potentiomètre permettant de compenser les variations de pH dues à la température.

ECHELLES DE pH.

Pour évaluer en unités pH la déviation d'un galvanomètre, celui-ci devra être étalonné par une série de liquides de pH connus dont la conservation et la constance soient les meilleurs possible ; ces solutions sont dites tampons étalon.

Les valeurs trouvées par une méthode donnée pour une série de solutions à différentes températures constituent une échelle de pH.

- Echelle de SORENSEN.

Les solutions tampons de SORENSEN sont constituées par un mélange de phosphates disodiques et monopotassiques.

Cette échelle a été primitivement définie en termes de $[H^+]$ en se basant sur une conception archaïque de la dissociation des acides. Elle a été fort utilisée jusqu'à ces dernières années, mais à l'heure actuelle elle a été à peu près complètement abandonnée car elle donne des valeurs de pH nettement différentes (+ 0,04 unités) des échelles actuellement adoptées.

- Echelles d'HITCHCOCK-TAYLOR et de et de MAC INNES-BELCHER-SHEDLOVSKY.

A la différence de la précédente, elles sont basées sur des déterminations dans des cellules comportant un potentiel de jonction. Ce sont des échelles plus précises que celles de SORENSEN mais l'échelle de MAC INNES semble avoir une portée limitée étant donné la marge étroite des valeurs de pH.

- Echelle National Bureau of Standards (NBS).

Cette échelle a fait l'objet de nombreux efforts de divers chercheurs américains durant les années qui ont suivi la dernière guerre. Elle a été évaluée sur des systèmes ne com-

portant pas de liquide de jonction, l'activité ionique ayant été calculée à partir d'équations théoriques. Cette échelle est considérée comme théoriquement significative à ± 0.01 unité pH.

- Echelle British Standards (BS).

Contrairement aux méthodes précédentes, on n'a pas essayé de relier les chiffres de pH à des valeurs déterminées par calcul théorique.

Une solution de phtalate acide de K M/20 est définie comme ayant un pH = 4,000 à 15°. Les valeurs des tampons secondaires ont été recueillies par plusieurs chercheurs :

- tampon acide acétique M/10 - acétate Na N/10.
- tampon phosphate disodique M/40 - phosphate monopotassique M/40.

Le tableau 1 montre les écarts qui dans les valeurs de mêmes tampons à la même température avec les différentes échelles de pH.

	HITCHCOCK	MAC INNES	N.B.S.	B.S.
pHtalate acide K 0.05 M	4.025	4.015	4.03	4.026
acide acétique acétate Na 0.1M	4.655	4.635	-	4.65 ou 4.66
PO_4HNa_2 - $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ 0.025 M	6.835	-	6.84	6.84
Tétraborate Na 0.05 M.	9.070	-	9.08	9.07

Tableau 1 -

Comparaison entre les différentes échelles de pH à 38°.

- Choix d'une échelle de pH.

C'est un problème particulièrement important mais qui malheureusement n'a pas reçu de solution définitive. Un symposium récent (1959) réunissant de nombreux spécialistes a mis en évidence la nécessité d'une standardisation internationale de cette question pour que les résultats obtenus dans différents laboratoires soient comparables.

Si l'on se reporte à l'échelle NBS, la solution 0.025 équimolaire phosphatée peut être choisie comme solution tampon standard primaire. Un deuxième système tampon est nécessaire après standardisation avec la solution primaire. Le tampon borax semble convenable. Il vaut mieux utiliser la solution 0.05 M que la solution 0.01 M dont le pouvoir tampon est insuffisant : mais de toute manière le tampon boraté est de mauvaise conservation et doit être fréquemment renouvelé.

Un troisième tampon de référence est utilisable : la solution de phtalate acide de K 0.05 M semble recommandable.

On trouvera sur le tableau 2 l'échelle standard de pH proposée pour les mesures de pH sanguins.

Mais il ne faut pas oublier que les solutions N.B.S. ont été étudiées dans des cellules sans liquide de jonction, de telle sorte qu'il faut effectuer une correction tenant compte du potentiel du liquide de jonction. D'après BATES et coll. l'erreur est très faible et la correction à pratiquer est de l'ordre de 0.001 unité pH qui est expérimentalement négligeable.

En fait cette échelle N.B.S. serait satisfaisante si la définition de la solution tampon primaire phosphatée était mieux assurée.

Nous terminerons par quelques remarques pratiques :

a - la diffusion d'électrolyte à partir de l'électrode de jonction (contenant le ClK) peut affecter le pH de la solution tampon étalon et ceci d'autant plus que la quantité de solution est faible,

b - L'importance du liquide de jonction doit être d'ores et déjà signalée. La solution de ClK saturé est classique car elle a un faible potentiel de jonction, mais elle a l'inconvénient de provoquer des coagulum au contact du sang, ce qui peut entraîner des variations du potentiel : ce phénomène limite incontestablement les possibilités de stabilité et de reproductibilité de la détermination du pH sanguin.

Température en degré C.	Phtalate aci- de de potas- sium M/20	Phosphate disodique M/40 Phosphate monopo- tassique M/40	Borax de so- dium M/40
0	4.012	6.983	9.512
1	4.010	6.976	9.496
2	4.009	6.969	9.480
3	4.007	6.961	9.464
4	4.006	6.956	9.449
5	4.005	6.950	9.434
6	4.004	6.944	9.419
7	4.003	6.938	9.404
8	4.002	6.933	9.389
9	4.002	6.927	9.375
10	4.001	6.922	9.362
11	4.001	6.916	9.350
12	4.000	6.911	9.338
13	4.000	6.906	9.326
14	4.000	6.901	9.315
15	4.000	6.896	9.305
16	4.000	6.892	9.294
17	4.000	6.888	9.282
18	4.000	6.885	9.270
19	4.001	6.881	9.259
20	4.001	6.878	9.247
21	4.002	6.874	9.236
22	4.002	6.870	9.226
23	4.003	6.867	9.216
24	4.004	6.863	9.206
25	4.005	6.860	9.196
26	4.006	6.857	9.187
27	4.007	6.855	9.178
28	4.008	6.853	9.169
29	4.010	6.851	9.161
30	4.011	6.849	9.152
31	4.012	6.847	9.143
32	4.014	6.846	9.134
33	4.015	6.844	9.126
34	4.017	6.843	9.117
35	4.019	6.842	9.109
36	4.021	6.841	9.101
37	4.023	6.840	9.093
38	4.025	6.839	9.085
39	4.027	6.838	9.077
40	4.030	6.837	9.069
41	4.032	6.837	9.062
42	4.035	6.836	9.055
43	4.038	6.835	9.049
44	4.040	6.834	9.043
45	4.043	6.834	9.037
46	4.046	6.834	9.031
47	4.049	6.833	9.025
48	4.052	6.833	9.019
49	4.055	6.833	9.013
50	4.059	6.833	9.008

Tableau 2 - Echelle de pH proposée par MATTOCK pour la standardisation des mesu-
res du pH sanguin. (échelle établie selon les normes de l'échelle NBS et sans li-
quide de jonction).

2ème Partie

LES APPAREILS DE MESURE

Les appareils de mesure que nous avons été amenés à utiliser et à tester sont des pH-mètres électrométriques construits par la firme Radiometer (de Copenhague).

Deux appareils vont être ici décrits correspondant à un principe de fonctionnement différent :

- le pH-mètre Radiometer 4,
- et le micro dispositif d'Astrup
type A.M.E.I.

I. - LE RADIOMETER 4.

=====

C'est un pH-mètre fonctionnant suivant un principe de compensation.

Caractéristiques générales du pH-mètre 4.Principe Général

1) Le Radiometer 4 est un pH-mètre (et un millivolt-mètre) alimenté par piles, conçu pour la détermination de la différence de potentiel entre deux électrodes plongées dans une solution.

2) La résistance d'entrée élevée (10^{12} ohms) et le faible courant grille (inférieur à 3×10^{12} amps) permettent une bonne précision des électrodes de verre de grande résistance interne.

3) L'appareil fonctionne suivant le principe de compensation. La tension de compensation est réglée au moyen d'un commutateur à 14 positions (chaque position correspond à une unité pH) et d'un diviseur de tension continu couvrant 1,05 pH sur une graduation longue de 272 mm.

4) La tension de compensation provient d'une pile étalon.

Principe de fonctionnement.

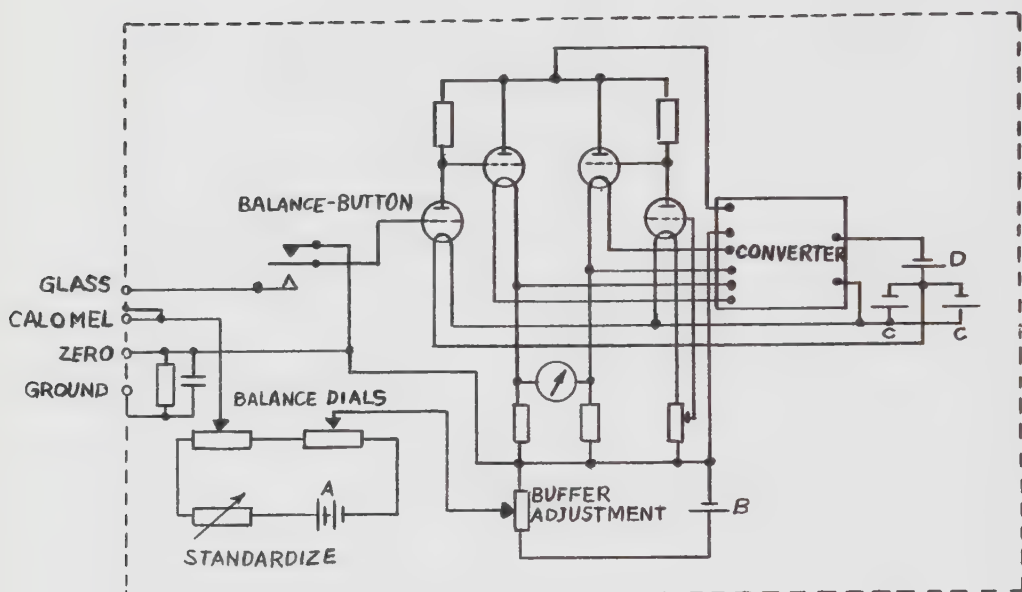


Fig. 6

La tension d'électrodes appliquée aux bornes GLASS/CALOMEL est compensée par la tension réglée au moyen des cadrans d'équilibrage (BALANCE DIALS). L'opérateur règle ces cadrans jusqu'à ce que l'indication ne soit plus modifiée lorsqu'on appuie sur le bouton d'équilibrage (BALANCE BUTTON). La tension plaque de l'amplificateur et le courant de chauffage des filaments des tubes d'alimentation proviennent d'un transistor-transformateur de 4 kc (CONVERTER) alimenté par des piles de 1,5 V. (C et D).

Manipulation du pH-mètre.

Contrôle des piles.

Le contrôle des piles s'effectue en tournant le commutateur principal (marqué Off. A.B.C.D. ON) sur les positions A.B.C. et D respectivement et l'aiguille sur le cadran doit toujours rester dans la zone sombre.

Allumage de l'appareil.

On amène le commutateur sur la position ON et on laisse chauffer l'appareil pendant quelques minutes.

Il faut s'assurer que le bouton "Press to balance" n'est pas bloqué. S'il l'est, on le libère par une légère pression vers le haut.

Préparation des électrodes.

Après avoir rempli par aspiration l'électrode au calomel de type K₁₀₀ de solution de KCL saturée on tourne le robinet d'arrêt d'un demi tour et on laisse s'écouler une goutte de chlorure de potassium par l'extrémité inférieure du capillaire.

L'électrode doit ensuite être soigneusement essuyée avec un papier filtre sec.

Puis elle est placée sur la borne marquée "calomel".

De la même façon l'électrode de verre, d'abord rincée à l'eau distillée, est séchée avec un papier filtre et placée sur la borne GLASS.

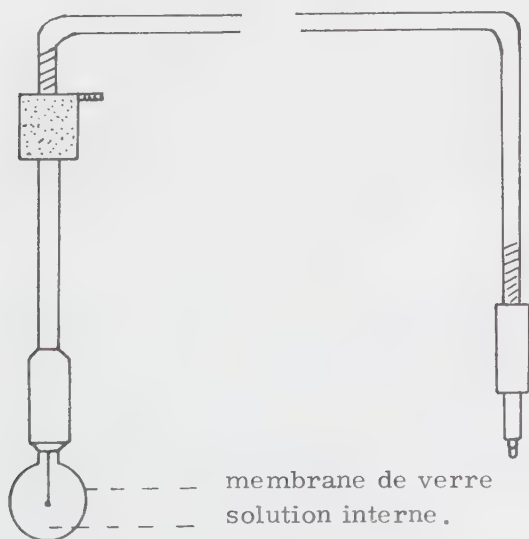


Fig. 7 - L'électrode de verre type G 262 CG.

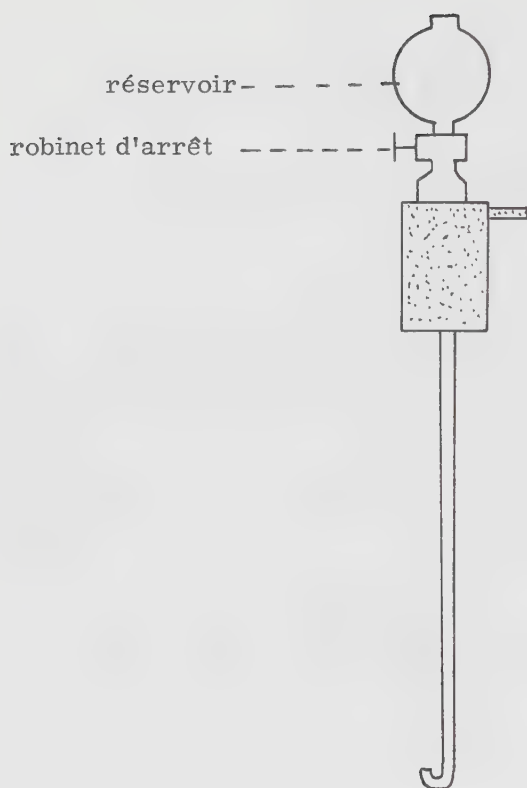


Fig. 8 - L'électrode au calomel type K 100.

Réglage du zéro.

On amène l'aiguille au zéro au moyen des deux boutons marqués "zéro". Le bouton supérieur assure un réglage grossier, l'inférieur un réglage fin.

Standardisation.

Le commutateur "+ / - / pH" étant sur la position pH, le zéro est revérifié et le bouton de réglage de température doit indiquer la température de l'échantillon.

On appuie alors sur le bouton "Press to standardize" et au moyen des boutons "Standardize" on place l'aiguille à nouveau sur le zéro (le bouton supérieur assurant un réglage grossier, l'inférieur un réglage fin).

On relâche alors le bouton "Press to standardize" et on vérifie que l'aiguille reste au zéro.

Il faut standardiser chaque fois que l'on modifie le réglage de la température.

Etalonnage sur une solution tampon.

Dans un becher rempli de solution tampon, on plonge les électrodes. On règle les cadrans "Balance" sur la valeur théorique du pH de la solution. En appuyant sur le bouton "Press to balance", on tourne le bouton "Buffer adjustment" jusqu'à ce que l'aiguille indique le zéro. L'appareil est maintenant prêt pour les déterminations du pH sanguin.

Mesure.

Après avoir enlevé le becher contenant le tampon, rincé à fond à l'eau distillée, et séché avec du papier filtre les électrodes, on graisse la partie rodée de l'électrode de verre et on lui adapte la cupule à analyse. A l'extrémité inférieure de la cupule on ajuste une aiguille à intramusculaire. Un tube de caoutchouc contenant une petite bille de verre est branché sur l'orifice latéral de la cupule.

Il faut alors introduire l'aiguille dans le flacon à prélèvement rempli de sang sous une couche d'huile de vaseline. A l'aide du tube de caoutchouc et en coinçant entre le pouce et l'index la bille de verre on aspire doucement le sang dans la cupule à analyse, sans introduire de bulles d'air. Quand le bulbe de l'électrode est complètement immergé on retire l'aiguille.

(Il est à noter que certains expérimentateurs préfèrent utiliser des cupules à analyse dotées d'un système permettant l'injection directe du contenu de la seringue à prélèvement).

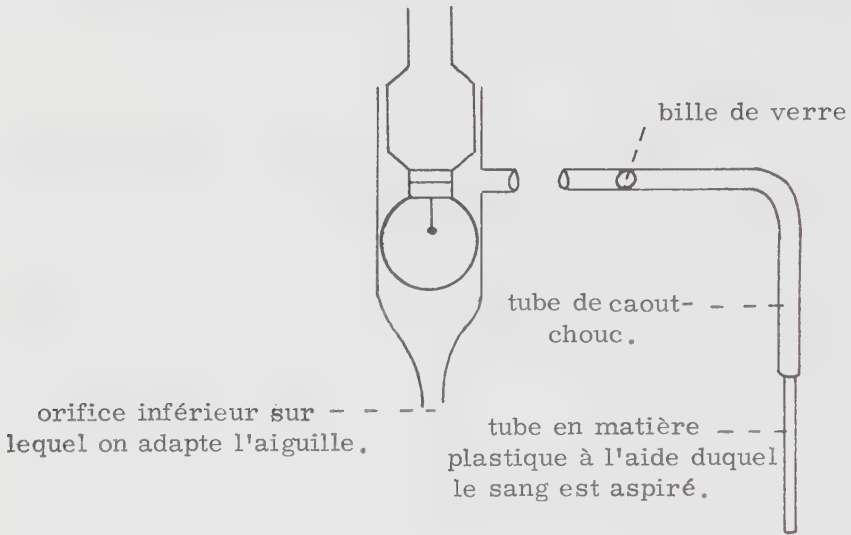


Fig. 9 - Cupule à analyse.

Quoiqu'il en soit, on plonge électrode au calomel et pointe de la cupule à analyse dans un becher contenant du ClK saturé, en veillant à ce que le contact soit réalisé entre le sang et le chlorure de potassium. On appuie sur le bouton "Press to balance" et on tourne les cadrans "Balance" jusqu'à ce que l'aiguille se stabilise au zéro. On relâche le bouton et on lit le pH de l'échantillon sanguin. Après avoir retiré la cupule à analyse, on essuie soigneusement la graisse déposée sur la partie rodée. Puis on rince les électrodes à l'eau distillée.

Il est conseillé de refaire ensuite une mesure du pH du tampon.

(Voir dessin ci-après).

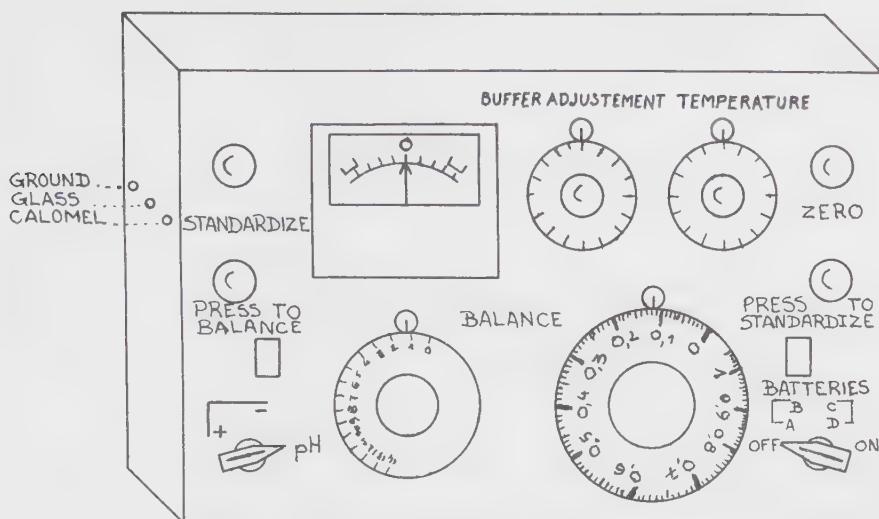


Fig. 10 - Schéma du pH mètre 4

Conseils généraux pour la manipulation des électrodes.

1) L'électrode de verre,

doit être maintenue sèche si elle ne sert pas pendant 15 jours ou plus.

Une électrode sèche sera plongée pendant quelques heures dans une solution d'acide chlorhydrique 0,1 N avant d'être réutilisée.

On n'attendra de résultats parfaits de cette électrode qu'au bout de quelques jours d'utilisation.

La durée de vie d'une électrode de verre est d'environ un an qu'elle serve ou non. Dans les vieilles électrodes le potentiel s'établit lentement. A la fin la différence de potentiel devient indépendante du pH de la solution à tester. Il en est de même si la membrane de verre présente craquelures ou fêlures.

2) L'électrode au calomel, type K₁₀₀ est pourvue d'un embout recourbé qui réalise une jonction ouverte à faible débit

entre la solution de KCl et le contenu du bécher. Ainsi le potentiel de diffusion est-il pratiquement négligeable.

Après chaque mesure il faut tourner le robinet d'arrêt d'un demi-tour afin que l'extrémité soit toujours remplie de solution de KCl fraîche.

Conseils pour le maintien de l'appareil en bon état.

Entretien quotidien.

On s'assure que les piles fonctionnent bien. Il est préférable d'utiliser l'appareil dans une atmosphère sèche. La tige de l'électrode de verre doit être maintenue propre et sèche et le bulbe plongé dans l'eau distillée en dehors des mesures.

Il faut garder un excès de KCl saturé dans le réservoir de l'électrode au calomel. L'électrode ne doit pas être exposée à l'air entre les mesures mais conservée dans du KCl saturé. Il vaut mieux la garder à température constante, bien qu'elle soit peu influencée par la température. On la remplit de KCl toujours par aspiration pour chasser les bulles d'air s'il y en a, et on ne la remplit jamais qu'avec du KCl saturé. De temps en temps on nettoiera les supports d'électrodes. De faibles traces d'acide, de sel ou d'alcali peuvent augmenter la résistance du circuit et surtout diminuer l'isolation. Il faut éteindre l'appareil s'il ne doit pas servir dans la demi heure qui suit.

Quelques précautions doivent être prises si l'appareil n'est pas utilisé pendant des périodes excédant 15 jours.

On doit en effet :

- Enlever les piles et les conserver dans un endroit frais et sec.
- Rincer l'électrode de verre.
- Vider la solution de KCl contenue dans le réservoir supérieur de l'électrode au calomel.
- Conserver les deux électrodes, dans leur emballage respectif.
- Placer l'appareil dans un endroit sec.

Lors de la remise en service de l'appareil.

- On plongera l'électrode de verre pendant 4 à 6 heures dans une solution de HCl 0,1 N.

- On branchera la résistance de chauffage.
- Les piles seront examinées. S'il y a trace d'exsudation, la pile en question sera remplacée.

La manipulation de l'appareil se fera ensuite comme il a été décrit précédemment.

II. - MICRO DISPOSITIF D'ASTRUP TYPE A.M.E.I.

=====

C'est le deuxième appareil que nous avons eu l'occasion de manipuler.

Par opposition au Radiometer 4 c'est un appareil :

- à lecture directe
- à électrodes thermostatées.

Son rayon d'utilisation est plus étendu que celui du Radiometer 4 puisqu'il permet

- outre la mesure du pH
- la détermination de la pCO_2 et des bicarbonates.

Nous ne décrivons que brièvement cet appareil. Pour plus de précisions nous conseillons de se reporter à la thèse de : D. HELFGOTT.

Caractéristiques générales.

Le Micro Astrup se compose :

- d'un pH-mètre
- d'électrodes avec dispositif de remplissage et de nettoyage
- d'un tonomètre
- et d'un système de thermostatisation.

Le pH-mètre.

C'est un Radiometer type PH M 22.

- à lecture directe
- avec cadran externe permettant la lecture de 6,8 à 8.
- les graduations sont de 0,01 unité pH.

La lecture est possible à 0,005 unité près et même pour un opérateur exercé à 0,0025.

Le pH-mètre est alimenté par le secteur.

Le thermostat.

Le maintien de la température à $38^{\circ}\text{C} \pm 0,3$ est assuré par une circulation d'eau additionnée de chlorure de potassium.

L'électrode verre (type G. 297).

C'est un tube capillaire soudé dans un tube de verre contenant le liquide de référence. L'électrode interne est en chlorure d'argent. Le tube capillaire contiendra la solution à tester. Il est en relation par une pièce de polyéthylène avec un tube capillaire de polyéthylène qui sert à introduire par aspiration le liquide à mesurer.

L'électrode de référence.

est une électrode au calomel type K. 497

Le pont électrique.

est obtenu grâce à du chlorure de potassium saturé.

Détermination du pH.

Recueil du sang.

Le sang peut être recueilli directement sur une oreille ou au bout du doigt. La piqûre rapide doit provoquer immédiatement la formation de belles gouttes de sang.

On remplit un tube de (60 μ), hépariné, avec la goutte de sang sans laisser pénétrer d'air.

Les deux extrémités du tube sont closes avec de la cire. On mélange alors le contenu au moyen du système magnétique adjoint à l'équipement de l'appareil.

Mesure du pH.

Après vérification de la bonne circulation du thermostat, on soulève l'électrode de son support ce qui entraîne le démarrage de la pompe d'aspiration.

On obture alors avec le pouce l'orifice du système d'aspiration de l'électrode et on aspire de l'eau distillée dans le tube

capillaire de l'électrode de verre en plongeant le capillaire de polyéthylène dans un flacon d'eau distillée.

a - Etalonnage de l'appareil.

Les tubes capillaires de polyéthylène et de verre sont remplis de manière identique avec le tampon. On cesse alors d'obturer l'orifice et on replace l'électrode de verre sur son support, le capillaire de polyéthylène plongeant dans l'électrode au calomel.

Ceci arrête la pompe d'aspiration et met en marche le pH-mètre. Grâce au bouton d'ajustement on étalonne au pH de la solution tampon, on rince ensuite l'électrode à l'eau distillée (par aspiration). Puis on la sèche par aspiration d'air.

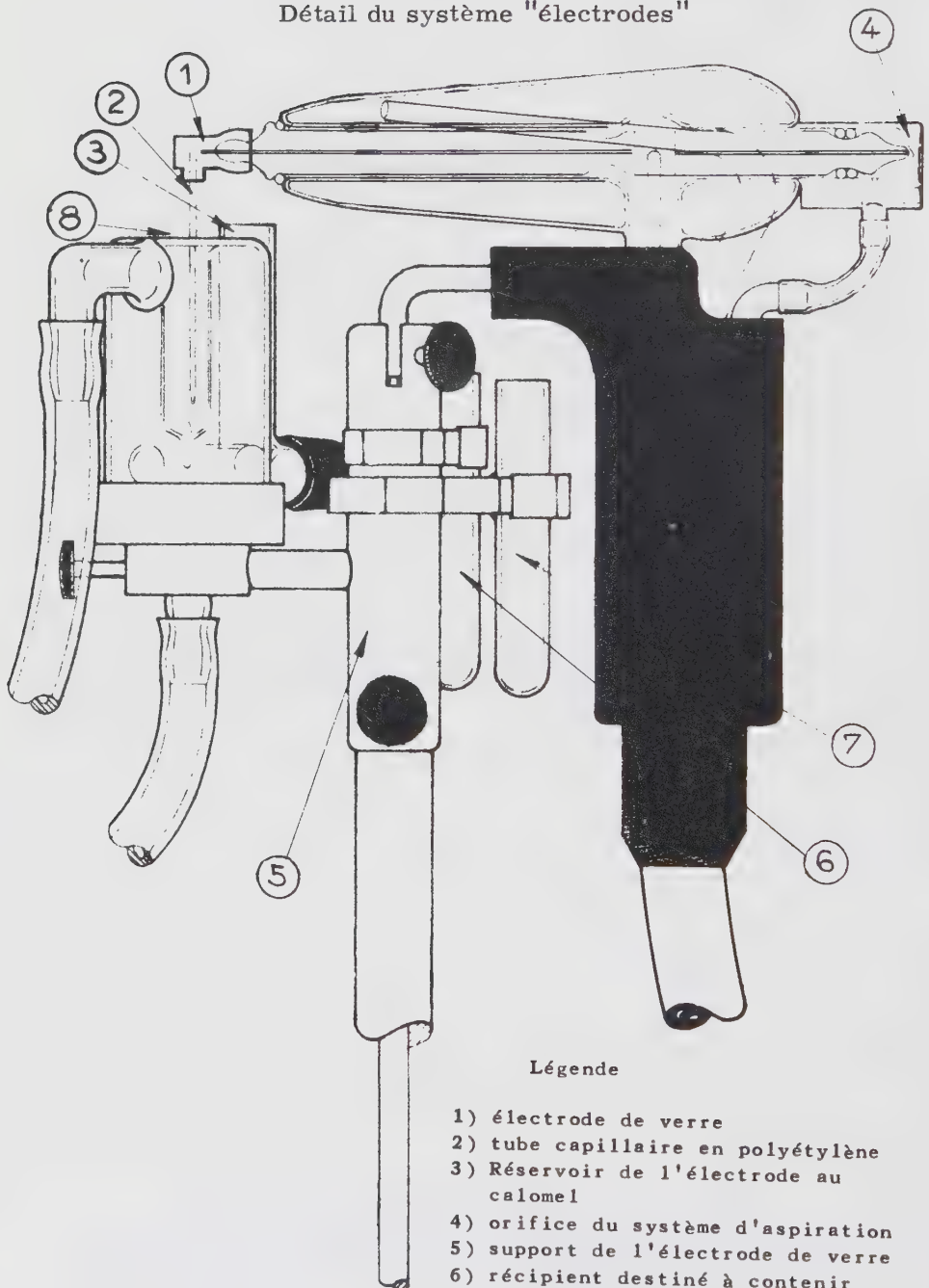
b - Mesure du pH sanguin.

Le contenu du tube à doser est agité une fois de plus. On coupe alors les extrémités obturées du tube et on aspire le sang dans l'électrode de verre. Quand l'électrode est remplie de sang on ouvre l'orifice du système d'aspiration. L'électrode de verre en position de mesure, on lit alors le pH sur le cadran.

Après rinçage de l'électrode au tampon on replace celle-ci en position de repos. Le tampon est préférable pour le rinçage car il ne provoque pas de précipité. On peut également employer du sérum physiologique à 0,9 %.

Fig. 11

Détail du système "électrodes"



Légende

- 1) électrode de verre
- 2) tube capillaire en polyéthylène
- 3) Réservoir de l'électrode au calomel
- 4) orifice du système d'aspiration
- 5) support de l'électrode de verre
- 6) récipient destiné à contenir le tampon
- 7) récipient destiné à contenir l'eau distillée
- 8) électrode au calomel

TECHNIQUES GENERALES .

I. - MATERIEL ET PRELEVEMENT :

=====

Tous les échantillons de sang analysés, provenant le plus souvent de sujets pathologiques mais aussi de chiens au cours d'expérimentations, sont d'origine artérielle.

Chez les malades la ponction artérielle est effectuée dans la fémorale au niveau du triangle de Scarpa. Après anesthésie très soigneuse de la peau et du tissu cellulaire périartériel afin d'éviter des spasmes parfois importants chez les sujets émotifs, le sang est prélevé de manière strictement anaérobie dans des seringues étanches préalablement héparinées et contenant 2 ou 3 ml d'huile de vaseline. Puis il est immédiatement transvasé dans des flacons à pénicilline préparés à l'avance. Ces flacons contiennent une goutte d'héparine et 4 à 5 ml d'huile de vaseline ce qui évite tout contact du sang avec l'air. Les échantillons sanguins ainsi recueillis sont portés sans délai au laboratoire où la mesure du pH est effectuée immédiatement.

Chez les chiens anesthésiés une sonde de Cournand est mise en place dans l'artère fémorale et les échantillons sanguins sont également prélevés de manière anaérobie dans des seringues à verrou américain préalablement héparinées. Puis le sang est introduit à l'aide d'une aiguille sous la couche d'huile de vaseline d'un flacon de pénicilline contenant une goutte d'héparine. Dans tous les cas où la mesure du pH a été effectuée à la fois par le pH-mètre Radiometer type 4 et par le micro dispositif d'Astrup le sang analysé a été prélevé dans le même flacon.

II. - APPAREILS DE MESURE.

=====

Nous avons utilisé les appareils décrits précédemment, à savoir :

- le pH-mètre Radiometer type 4.
- le micro dispositif d'Astrup type A.M.E.I.

III - SOLUTIONS TAMPONS ETALON.

=====

Nous avons exposé au cours du chapitre précédent la difficulté de standardiser cette question primordiale dans l'établissement des valeurs absolues du pH.

Au cours de notre travail nous avons personnellement adopté la position suivante :

1) - Le phtalate acide de K a été utilisé comme tampon primaire. La solution 0,05 M obtenue en dissolvant 10,211 g de ce sel dans 1000 ml d'eau distillée est fréquemment renouvelée, car sa consommation à long terme est réputée médiocre. Comme dans l'échelle B.S. nous avons pris comme valeur de référence un $\text{pH} = 4,000$ à 15° ; les autres valeurs théoriques de ce tampon aux différentes températures sont consignées dans le tableau 2.

2) - Nous avons choisi comme solution tampon secondaire, un tampon phosphaté dont le pH est toujours aux environs de 7,00. Diverses solutions commerciales ont été utilisées (certifiées N.B.S. ou non) et leur valeur a été réajustée compte-tenu du tampon primaire.

3) - Dans un certain nombre de cas nous avons utilisé un autre tampon de référence dont le pH est plus alcalin, à savoir la solution Borax M/20.

IV - LIQUIDE DE JONCTION

=====

Nous avons dans tous les cas utilisé la solution saturée en ClK, malgré les inconvénients signalés précédemment.

Nous avons rejeté les solutions isotoniques, qui évitent la possibilité de formation de coagulum aux points de contact, sang-solution de ClK, mais dont le potentiel de jonction est élevé et mal standardisé.

L'électrode servant à la jonction a été soigneusement traitée. On rappellera les précautions suivantes à prendre :

- nettoyer soigneusement l'électrode sans jamais y introduire d'eau pure.
- éliminer les cristaux qui pourraient s'incruster.
- éviter toute solution de continuité, en particulier toujours vérifier l'absence de bulles d'air.

3ème Partie

ETUDE EXPERIMENTALE

I. - LES TAMPONS ETALON

=====

Nous avons vu dans le chapitre précédent que la mesure du pH sanguin repose sur un étalonnage soigneux des électrodes au moyen de solutions tampons assurant une échelle étalon.

Nous avons poursuivi un certain nombre d'essais partant des solutions tampons réputées les plus conformes à l'heure actuelle.

A. - Nous examinerons successivement :

- 1) tampon phtalate acide de potassium.
- 2) tampon phosphates du commerce.
- 3) tampon borax.

1 - Phtalate acide de potassium.

Préparation de la solution : nous avons utilisé un sel distribué par Prolabo. La solution renferme 10,211 g de sel par litre. (La concentration est 0,05 molaire).

Aucune précaution nécessaire n'est à recommander, sinon la conservation de la solution à $+4^{\circ}$.

Etude de la stabilité de cette solution.Technique :

L'appareil a été étalonné le premier jour sur la valeur théorique du phtalate à la température de laboratoire et nous avons lu tous les jours pendant 7 jours le pH de la solution sans modifier l'étalonnage de l'appareil de mesure.

Résultats :

Deux séries de résultats sont représentées ici :

Δ pH représente la différence entre le pH lu et sa valeur théorique à la même température.

1ère série (Tableau 3)

	Température	pH lu	pH théorique	Δ pH
1er Jour	24 °	Ajustement à	4,004	
3e Jour	25 ° 5	4,004	4,005	- 0,001
4e Jour	19 °	4,001	4,001	0
	21 °	4,003	4,002	+0,001
5e Jour	21 °	4,002	4,002	0
6e Jour	21 °	4,002	4,002	0
7e Jour	20 °	3,998	4,001	- 0,003

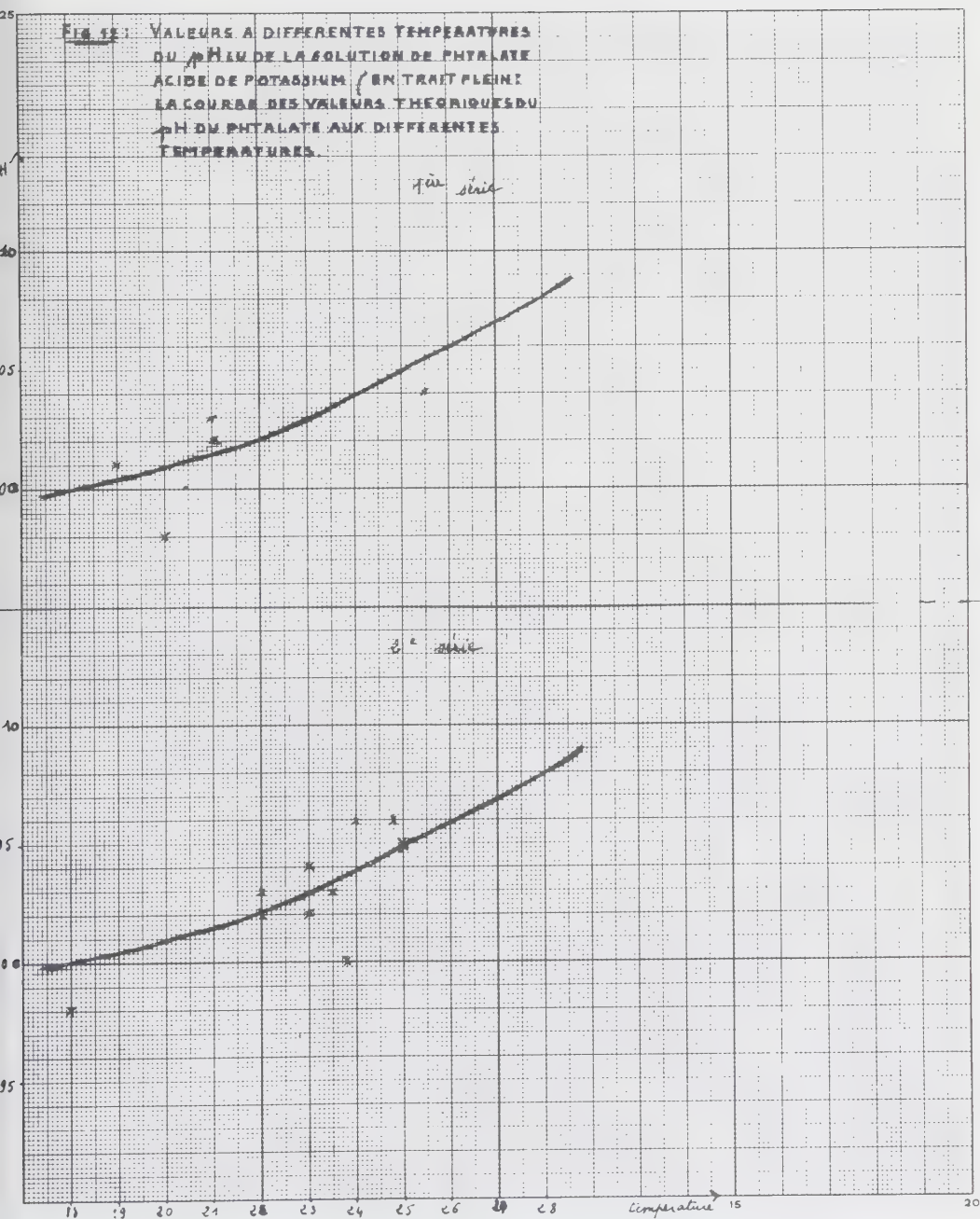
le 7è jour l'appareil a été réajusté à 4,001.

N.B. - En fait ces mesures ne sont qu'approximatives car la précision du Radiometer n'est pas tout-à-fait suffisante pour affirmer des lectures à 0,001 près.

2ème Série. (Tableau 4).

	Température	pH lu	pH théorique	Δ pH
1er Jour	26°	Ajustement à	4,006	
2e Jour	24 °	4,006	4,004	+0,002
3e Jour	22 °	4,002	4,002	0
	23 °	4,003	4,003	0
4e Jour	24 ° 8	4,006	4,005	+0,001
	25 °	4,005	4,005	0
5e Jour	23 °	4,004	4,003	+0,001
	23 °	4,002	4,003	-0,001
6e Jour	23 ° 5	4,003	4,003	0
	23 ° 8	4,000	4,004	-0,004
7e Jour	18 °	3,998	4,000	-0,002

Fig. 12: Valeurs à différentes températures du pH de la solution de phthalate acide de potassium (en trait plein: la courbe des valeurs théoriques du pH du phthalate aux différentes températures).



Nous avons représenté graphiquement ces résultats étudiant la variation du pH en fonction de la température (Fig. 12).

Conclusion :

On peut conclure à l'extrême stabilité de cette solution tampon acide puisque les valeurs de pH ne s'écartent pas de $\pm 0,004$ pendant un laps de temps d'une semaine.

2 - Solutions tampons étalons phosphates.

Nous avons utilisé des solutions commerciales :

a - solution Beckman pH = 7,00 à 25°

b - solution I.L.I. pH = 7.413 à 25°

a/ Solution Beckman.

Il s'agit d'une solution tampon phosphaté pH = 7,000 à 25° se présentant sous forme d'une solution concentrée que l'on doit diluer au 1/25^e lors de son utilisation.

La conservation à la glacière de ce concentré n'est pas indispensable.

1°) - Etude de la stabilité de cette solution.

Technique :

L'appareil a été étalonné tous les jours sur la valeur théorique du phtalate à la température du laboratoire et nous avons lu tous les jours pendant 7 jours le pH de solutions fraîchement préparées, à partir d'un concentré de Beckman nouvellement ouvert.

Dans une première série de mesures :

Le premier jour, après ajustement de l'appareil sur la valeur théorique du phtalate nous avons trouvé comme valeur du pH du Beckman 6,968 à 24°. La valeur théorique à cette température étant de 7,004, afin de nous faire une opinion sur les variations des valeurs du tampon dans le temps, nous avons ultérieurement soustrait des valeurs théoriques 0,036 puisque le pH de notre Beckman était le premier jour de 0,036 unités inférieur à sa valeur théorique.

Dans une deuxième série de mesures :

le pH du Beckman (6,960 à 26°) était inférieur de 0,037 à sa valeur théorique (6,997 à 26°). Nous avons donc soustrait ce nombre de toutes nos valeurs théoriques.

1ère Série (Tableau 5)

	Température	pH lu	pH théorique - 0,036	pH
1er Jour	24 °	6,968		
3e Jour	25 °	6,973	6,964	+0,009
4e Jour	22 °	6,985	6,976	+0,009
5e Jour	23 °	6,992	6,972	+0,020
6e Jour	23 °	6,960	6,972	-0,012
7e Jour	23 °	6,970	6,972	-0,002
2ème Série			pH théorique - 0,037	
1er Jour	26 °	6,960		
2e Jour	24 °	6,963	6,967	-0,004
3e Jour	23 °	6,973	6,971	+0,002
4e Jour	25 ° 5	6,968	6,962	+0,006
5e Jour	23 °	6,973	6,971	+0,002
6e Jour	25 °	6,952	6,963	-0,011
7e Jour	25 °	6,950	6,963	-0,013

Δ pH représente la différence entre le pH lu et la valeur théorique à la même température.

Conclusion :

L'étude de ce tampon ne montre donc pas la même stabilité que celle du phthalate, des variations de $\pm 0,02$ sont en effet observées dès les premiers jours d'utilisation.

2°) - Etude de la conservation de la solution tampon commerciale.

Technique :

L'appareil étant dans tous les cas étalonné sur la valeur théorique du phthalate à la température du laboratoire nous avons comparé à la même température (25°) la valeur du pH d'un Beckman fraîchement ouvert et la valeur du pH de ce même Beckman alors que le concentré était utilisé depuis 39 et 40 jours.

Résultats

(Δ pH représente la différence entre le pH lu à 25° le 39e et le 40e jour et le pH du 1er jour à 25°).

	pH lu	Δ pH
1er jour	6,973	
39e jour	6,962	- 0,011
40e jour	6,982	+ 0,009

Tableau 6

Conclusions :

Le concentré de Beckman ne parait pas altéré par le "vieillissement" puisque les variations observées au bout de 39 et 40 jours ne sont pas supérieures à celles observées pendant les 7 premiers jours d'utilisation.

3°) - Comparaison entre les valeurs de pH trouvées pour le tampon Beckman et les valeurs théoriques à différentes températures.

Technique :

Pour cette étude l'étalonnage de l'appareil a été fait sur le pH du phtalate à sa valeur théorique et vérifié plusieurs fois par jour. N'ont été retenues que les valeurs de pH des solutions de Beckman fraîchement préparées.

Les résultats : sont consignés sur le tableau suivant pour chaque degré de température entre 20° et 27°.

Δ pH représente la différence entre les pH lus et la valeur théorique à la même température.

Température	Valeur théorique du tampon	Valeur lue	Δ pH
20°	7,020	6,998	- 0,022
21°	7,016	6,980	- 0,036
22°	7,012	6,985 6,975 6,970 7,000 6,975 6,975 7,000	- 0,027 - 0,037 - 0,042 - 0,012 - 0,037 - 0,037 - 0,012
23°	7,008	6,995 6,980 6,990 6,970 6,990 6,985 6,980 6,995 7,000 6,980 6,975 6,970 7,010 7,000	- 0,013 - 0,028 - 0,018 - 0,038 - 0,018 - 0,023 - 0,028 - 0,013 - 0,008 - 0,028 - 0,033 - 0,038 + 0,002 - 0,008
24°	7,004	7,005 6,985 6,980 6,990 6,985 6,970 7,000 6,980 6,990 6,980 7,000 6,990 6,980 7,010	+ 0,001 - 0,019 - 0,024 - 0,014 - 0,009 - 0,034 - 0,004 - 0,024 - 0,014 - 0,024 - 0,004 - 0,014 - 0,024 + 0,006
25°	7,000	7,005 6,975 6,970 6,950 6,960 7,020 7,000 6,995 6,990 7,000 6,990 6,990 6,970 6,970 7,000 6,980 6,990 6,990	+ 0,005 - 0,025 - 0,030 - 0,050 - 0,040 0 + 0,020 - 0,005 - 0,010 0 - 0,010 - 0,010 - 0,030 - 0,030 0 - 0,020 - 0,010 - 0,010
26°	6,997	6,960 6,970 6,950 6,980 7,000 7,000 7,000 6,990 6,985 6,990 6,990 6,970 6,970 6,975 7,005 6,975 6,970 6,995 7,000 7,000	- 0,037 - 0,027 - 0,047 - 0,017 + 0,003 + 0,003 + 0,003 - 0,007 - 0,012 - 0,007 - 0,007 - 0,027 - 0,022 + 0,006 - 0,022 - 0,027 - 0,002 + 0,003 + 0,003
27°	6,994	6,960 6,985 6,990 6,990 6,985 6,975 6,970 7,005 7,005	- 0,034 - 0,009 - 0,004 - 0,004 - 0,009 - 0,019 - 0,024 + 0,011 + 0,011
m			- 0,01712
$\frac{m}{V}$			0,001511
n			11

Tableau 7

Comparaison entre les valeurs lues et les valeurs théoriques du tampon Beckman à différentes températures.

Dans 67 cas sur 83 la valeur du pH du Beckman est inférieure à la valeur théorique et dans 35 cas elle est même inférieure de 0,02 unité pH.

Dans 3 cas seulement elle est identique.

Dans 13 cas elle est supérieure à la valeur théorique mais faiblement.

Dans un cas seulement elle lui est nettement supérieure (+ 0,02 unité pH).

L'analyse statistique globale de ces résultats permet de préciser que l'écart moyen Δ pH est de - 0,01712. L'écart réduit de valeur très élevée (11) prouve qu'il y a une différence très significative entre la valeur théorique de ce tampon et les valeurs que nous avons trouvées.

Rappelons que pour l'analyse statistique nous calculons l'écart réduit en utilisant la formule

$$t = \frac{m}{\sqrt{SVn}} = e.r.$$

où m est la moyenne des écarts

SVn la variance de cette moyenne

et t la variable de Student Fisher.

La signification est lue dans la table de Student Fisher et nous ne retenons que les différences significatives à un seuil de $P < 0,05$.

Conclusion :

- Après ajustement de l'appareil de mesure sur le phtate, la valeur du pH de ce tampon est donc nettement inférieure à sa valeur théorique.

- Si l'on observe les résultats trouvés pour une même température, on peut noter entre les pH lus des variations de 0,045 unité pH ce qui confirme bien l'instabilité de ce tampon. Mais il faut bien dire que le fabricant n'affirme ce tampon précis qu'à $\pm 0,02$ unité pH.

b/ Nous avons également étudié un tampon de l'Instrumentation Laboratory Inc, tampon constitué d'un mélange de phosphates de sodium et de potassium. Le tampon est prêt à l'uti-

lisation et doit évidemment être conservé à la glacière pour éviter le développement de moisissures et de bactéries.

Ce tampon a l'avantage d'être proche du pH du sang :

$$\text{pH} = 7,413 \text{ à } 25^\circ.$$

1°) - Etude de la conservation de cette solution.

Technique :

L'appareil étant toujours ajusté à la valeur théorique du phtalate à la température du laboratoire, nous avons comparé à la même température les valeurs du pH d'un flacon ouvert depuis 40 jours et d'un flacon fraîchement débouché.

Résultats :

(Δ pH représente la différence entre le vieux tampon et la solution fraîche).

Tableau 8

Température	pH du vieux tampon	pH du tampon frais	Δ pH
25 °	7,390	7,390	0
25 °	7,385	7,385	0
25 °	7,380	7,380	0
26 °	7,370	7,370	0
26 °	7,380	7,390	- 0,01
26 °	7,400	7,400	0

5 fois sur 6 nous avons obtenu les mêmes valeurs.

Une seule fois le flacon récemment ouvert avait un pH supérieur de 0,01 unité.

Conclusion :

Ce tampon semble donc avoir une conservation supérieure à celle du tampon Beckman.

2°) - Comparaison entre les valeurs lues et les valeurs théoriques à la même température.

- Technique :

L'appareil étant étalonné sur le phtalate, nous avons lu les pH de ce tampon à différentes températures et comparé ces valeurs avec les valeurs théoriques correspondant à la température. N'ont été retenus que les pH de solutions fraîches, pour éliminer toute erreur due au contact avec l'air atmosphérique ou à l'introduction d'un peu de liquide conducteur dans la solution.

- Les résultats sont consignés sur le tableau 9.

(Δ pH représente la différence entre la valeur lue et la valeur théorique à la même température).

Les 37 pH déterminés sont tous inférieurs à la valeur théorique. La différence peut atteindre 0,04 unité pH et n'est jamais inférieure à 0,01.

L'analyse statistique de ces résultats permet de préciser que l'écart moyen Δ pH est de - 0,027. L'écart réduit de valeur très élevée (19,9) prouve qu'il y a une différence très significative entre la valeur théorique et les valeurs que nous avons déterminées.

- Conclusion :

- Si le tampon présente un avantage, sa bonne conservation, après étalonnage sur phtalate nous constatons une valeur constamment et nettement inférieure à la valeur théorique.

- Pour une même température, on note des différences de l'ordre de 0,03 unité pH donc moindres que celles observées avec la solution Beckman. Cependant cette précision est loin d'être celle affirmée par le fabricant à savoir : $\pm 0,003$ unité pH.

3°) - Tampon Borax

Préparation de la solution.

Le sel que nous avons utilisé provient de chez MERCK. La solution est obtenue en diluant 19,071 g de Borax cristallisé (tétraborate de sodium $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 10 \text{H}_2\text{O}$) par litre d'eau. La conservation se fait à la glacière mais n'est pas très bonne. Aussi la solution doit-elle être fréquemment renouvelée.

Température	Valeur théorique	Valeur lue	Δ pH
16°	7,430	7,405	- 0,025
21°	7,423	7,390	- 0,033
22°	7,420	7,390 7,400 7,400	- 0,030 - 0,020 - 0,020
23°	7,418	7,380 7,385 7,385 7,400 7,400 7,400 7,390 7,390 7,380 7,400 7,400	- 0,038 - 0,033 - 0,033 - 0,018 - 0,018 - 0,018 - 0,028 - 0,028 - 0,038 - 0,018 - 0,018
24°	7,415	7,390 7,390 7,390	- 0,025 - 0,025 - 0,025
25°	7,413	7,390 7,390 7,385 7,380 7,370 7,390 7,390 7,375 7,380 7,380 7,385	- 0,023 - 0,023 - 0,028 - 0,033 - 0,043 - 0,023 - 0,023 - 0,038 - 0,033 - 0,033 - 0,028
26°	7,410	7,370 7,370 7,380 7,390 7,400 7,400 7,375	- 0,040 - 0,040 - 0,030 - 0,020 - 0,010 - 0,010 - 0,035

m	- 0,027135
$\frac{S}{\sqrt{n}}$	0,001361
e.r.	19,937

Tableau 9.

Comparaison entre les valeurs théoriques du tampon de l'Instrumentation Laboratory Inc. et les valeurs lues à différentes températures.

Comparaison entre les valeurs lues et
les valeurs théoriques.

- Technique :

L'appareil de mesure étant toujours ajusté à la valeur théorique du phtalate à la température du laboratoire nous avons déterminé le pH du borax à différentes températures et comparé les résultats aux valeurs théoriques aux mêmes températures.

L'étude n'a porté que sur 4 échantillons.

- Résultats :

Voici les résultats obtenus. (Δ pH représentant la différence entre le pH lu et le pH théorique).

Tableau 10

Température	pH lu	pH théorique	Δ pH
19°	9,221	9,259	- 0,038
25°	9,160	9,196	- 0,036
26°	9,145	9,178	- 0,033
28°	9,135	9,169	- 0,034

Le pH lu est donc constamment inférieur au pH théorique, la moyenne des différences étant de - 0,035.

Conclusion :

Après étalonnage au phtalate, les valeurs du tampon borax sont toujours et très nettement inférieures aux valeurs du pH théorique.

B. - ETALONNAGE DES APPAREILS A L'AIDE DES
TAMPONS AUTRES QUE LE PHTALATE.

Ayant constamment trouvé, après ajustement de l'appareil sur la valeur théorique du phtalate, des valeurs de pH des tampons très inférieures aux valeurs théoriques il nous a paru intéressant d'étalonner nos appareils avec tampon Beckman et

tampon borax et de lire les valeurs de pH du phtalate.

Technique :

L'appareil étant étalonné sur la valeur théorique du Beckman nous avons lu les valeurs du tampon phtalate.

Puis l'appareil a été ajusté au pH du borate, et la lecture du pH du phtalate ensuite déterminé.

- Résultats :

- Après étalonnage par le tampon Beckman.

le pH du phtalate à 26° a été trouvé de 4,026
(valeur théorique = 4,006).

- Après étalonnage par le borax.

Voici les valeurs du phtalate observées :

pH phtalate à 26° = 4,048 (valeur théorique 4,006)

pH phtalate à 25° = 4,038 (valeur théorique 4,005).

Dans les 2 cas les pH sont donc nettement supérieurs à leur valeur théorique.

Conclusions

Cette dernière série d'expériences prouve que les valeurs théoriques des tampons ne sont pas fausses comme on pourrait le penser en trouvant toujours des chiffres inférieurs à ce qu'ils devraient être lorsqu'on ajuste sur le phtalate, mais l'écart paraît plutôt lié à un défaut de sensibilité de l'appareil de mesure.

C - AU TOTAL LES CONCLUSIONS TIREES DE CETTE ETUDE DES TAMPONS ETALONS SONT LES SUI- VANTES :

1 - La solution de phtalate acide K 0,05 M (pH : 4,000 à 15°) a une stabilité considérable et possède une qualité primordiale de bonne conservation.

2 - Les tampons phosphatés du commerce dont le pH est beaucoup plus proche de celui du sang ou du plasma ne présentent pas la stabilité de la solution phtalate.

Une solution tampon étalon comme celle présentée par Beckman réputée N.B.S. (pH : 7,00 à 25°) ne permet pas de

l'utiliser comme tampon primaire.

Une autre solution tampon phosphatée commerciale comme celle présentée par l'Instrumentation Laboratory Inc (pH : 7,413 à 25°) est beaucoup plus stable.

3 - Partant de l'étalon primaire phtalate, on trouve constamment des valeurs inférieures aux valeurs théoriques données pour les tampons phosphatés.

4 - Le tampon borax (pH : 9,196 à 25°) est également stable, mais de conservation réputée plus douteuse que celle du tampon phtalate.

5 - Lorsqu'on passe d'une solution de pH 4 à une solution pH 9 (ou inversement de pH 9 à pH 4), la réponse de l'électrode donne des résultats montrant une diminution de voltage correspondant à environ 0,03 unité pH. Ce fait connu, puisque SEVERINGHAUSS et coll. l'avaient déjà noté, correspond à un manque de linéarité de l'instrumentation de mesure.

6 - Quelles conclusions pratiques faut-il tirer et quelle solution pratique faut-il adopter ?

A l'heure actuelle dans un laboratoire de biologie médicale, on ne peut faire entièrement confiance à un tampon phosphate du commerce. Force est de recourir à un tampon primaire phtalate avec lequel on contrôle quotidiennement les valeurs du tampon phosphate.

Les déterminations du pH sanguin doivent être encadrées par celles de la solution tampon phosphate ; on fait une correction qui tient compte de la valeur théorique du pH de cette dernière solution tampon, correction qui a été établie grâce à l'étalonnage préalable effectué avec la solution tampon phtalate. Au total, on effectue un étalonnage quotidien du tampon phosphate par le phtalate ; ensuite, au cours de la journée, on se contente d'étalonner avec le seul tampon phosphate dont le pH proche de celui du sang permet l'utilisation de l'électrode, en faisant varier au minimum son potentiel ; de cette manière, on améliore la sensibilité de la réponse de l'électrode.

Cette attitude semble logique, mais elle ne sera satisfaisante qu'à la condition de posséder un tampon phosphate dont la valeur théorique soit exacte et précise.

Le tampon borax sert plus occasionnellement, mais permet d'étalonner la solution de phtalate acide de K, chaque fois que cette dernière est renouvelée. Ce tampon sert donc comme solution étalon secondaire.

Les variations de potentiel entre pH 4 et pH 9 peuvent aussi servir à juger de la constance de l'ensemble de l'instrumentation utilisée, et en particulier de la valeur de l'électrode de verre.

II.

RECUEIL ET CONSERVATION DU SANG.

=====

Nous avons voulu mettre en évidence ici le rôle d'un certain nombre de précautions à prendre lorsqu'on veut déterminer un pH sanguin ou plasmatique.

Nous avons retenu les points suivants :

- a) étude comparative du prélèvement sanguin aérobie et anaérobie et en particulier étude du pouvoir protecteur assuré par l'huile de vaseline.
- b) rôle de la technique de centrifugation sur le pH du plasma.

a - Rôle du prélèvement aérobie ou anaérobie.

Il n'est pas rare de constater, que dans certains laboratoires, on conteste la nécessité du prélèvement anaérobie lorsqu'il s'agit d'évaluer l'équilibre acido-basique sanguin.

C'est dans le but de préciser objectivement les différences entre ces deux modes de prélèvement que nous avons pratiqué les expériences suivantes.

Technique :

Du sang hépariné prélevé à la seringue sous huile de vaseline est immédiatement réparti dans 2 flacons différents, l'un contenant de l'huile de vaseline, l'autre n'en contenant pas. Ces flacons d'une contenance de 15 ml sont à goulot étroit.

- Les pH vont être mesurés à deux reprises.
- le plus rapidement possible après la ponction artérielle.
- trente minutes après la première détermination.

Pour chaque série l'ordre de détermination des pH a été identique : le premier échantillon étudié a été celui recueilli sous huile de vaseline. Le délai entre les deux déterminations de pH

n'a pas excédé 5 minutes.

Résultats :

1) - pH déterminés immédiatement après ponction :

Les résultats ont été consignés sur le tableau suivant :

Tableau 11

Echantillon origine	pH du sang recueilli sous huile de vaseline .	pH du sang recueilli sans huile de vaseline .	Δ pH *
Chien	7,26	7,26	0
Chien	7,24	7,23	- 0,01
Chien	7,30	7,30	0
Homme	7,31	7,30	- 0,01
"	7,36	7,35	- 0,01
"	7,34	7,33	- 0,01

* Δ pH = pH sans huile de vaseline - pH avec huile de vaseline.

La moyenne des différences de pH est $m = - 0,0065$, différence très faible proche de l'erreur de la mesure.

2) - pH déterminés trente minutes plus tard :

Les résultats de cette série d'expérience sont représentés sur le tableau suivant : Tableau 12.

* Δ pH = pH au bout d'1/2 heure - pH de départ.

pH du sang conservé sans huile de vaseline				pH du sang conservé sans huile de vaseline		
N°	Départ	1/2 h. après	Δ pH*	Départ	1/2 h. après	Δ pH*
201	7,26	7,25	- 0,01	7,26	7,31	+ 0,05
202	7,24	7,22	- 0,02	7,23	7,26	+ 0,03
203	7,30	7,29	- 0,01	7,30	7,36	+ 0,06
204	7,31	7,29	- 0,02	7,30	7,34	+ 0,04
205	7,36	7,35	- 0,01	7,35	7,41	+ 0,06
206	7,34	7,32	- 0,02	7,33	7,36	+ 0,03
$m = - 0,015$				$m = + 0,045$		

Dans cette nouvelle série, on constate que la moyenne des différences de pH est encore très faible lorsqu'on considère les échantillons conservés sous huile de vaseline ($m = - 0,015$). Cette moyenne augmente considérablement $m = + 0,045$ lorsque le sang a été conservé de manière aérobie.

Discussion :

Au bout d'une demi-heure, les variations du pH du sang prélevé avec vaseline peuvent donc être considérés comme faibles. Elles se font toujours dans le sens de l'acidification mais sont minimales. Par contre, en l'absence de protection huileuse, on constate une forte et constante alcalinisation du sang qui ne peut s'expliquer que par la perte de CO_2 au contact de l'air.

Il nous a paru sans intérêt de poursuivre plus avant cette démonstration qui n'a été faite que pour rappeler une précaution élémentaire : la nécessité de conserver le sang à l'abri de l'air. En effet en pratique hospitalière il est bien rare qu'il n'y ait pas un léger délai entre la prise de sang et le dosage.

Des expériences plus approfondies ont d'ailleurs été pratiquées par SIGAARD ANDERSEN qui utilisant une micro électrode compare les pH obtenus après exposition de gouttes de sang 2 minutes à l'air atmosphérique ; il trouve une légère hausse de pH entre $+ 0,005$ et $+ 0,010$.

b) - Techniques de centrifugation et pH plasmatique.

Nous avons vu que si le dosage du pH du sang total peut être fait dans la première demi-heure l'adjonction d'huile de vaseline semble être une précaution suffisante. Mais la couche de vaseline n'empêche pas à vrai dire la fuite de CO_2 (la solubilité du CO_2 y est plus élevée que dans l'eau). Elle la retarde seulement par un phénomène de surface. En cas de centrifugation elle pourrait sembler insuffisante.

Nous avons donc essayé de réaliser des centrifugations strictement anaérobies, et avons comparé les résultats avec ceux obtenus par centrifugation en tubes ordinaires sous huile de vaseline.

- Technique :

La centrifugation anaérobie peut être réalisée :

- en utilisant des tubes type Myers et Muntwyler qui réduisent la surface de contact, ou
- en supprimant totalement l'huile de vaseline en emplo-

yant des flacons fermés semblables à ceux utilisés par Van Slyke.

Nous avons utilisé des flacons spéciaux à pénicilline de 15 ml fermés par un bouchon de caoutchouc.

Le remplissage en est fait de la façon suivante : après avoir mis une mince couche d'huile au fond du flacon, celui-ci est rempli du sang prélevé en plongeant sous l'huile l'aiguille de la seringue à prélèvement. A mesure que le sang s'élève dans le flacon, l'huile de vaseline est chassée et s'écoule à l'extérieur. Lorsqu'il est rempli, qu'il ne reste plus qu'un léger ménisque d'huile au-dessus de la surface du sang le flacon est fermé à l'aide d'un bouchon de caoutchouc transpercé d'une aiguille de grand diamètre. La bulle d'air qui resterait sous le bouchon, le ménisque de vaseline, et le sang juste en contact sont chassés par l'aiguille. On retire cette dernière et on porte le flacon immédiatement à la centrifugation (1 200 t/mn pendant 8 minutes). En même temps, on centrifuge un échantillon de sang sous huile de vaseline dans un tube cône.

- Résultats :

L'ensemble des comparaisons des pH plasmatiques déterminés après centrifugation sur tubes ordinaires et sur flacons spéciaux sont consignés dans le tableau (13).

La moyenne des différences est de - 0,006 traduisant une légère alcalinisation des plasmas centrifugés dans des flacons ordinaires à large goulot. Mais l'étude statistique faite à partir de l'ensemble des chiffres montre que cette différence n'est pas significative.

(Voir tableau page suivante).

- Discussion :

Les résultats tendraient à prouver qu'il n'y a pas de perte importante de CO_2 par dissolution dans l'huile de vaseline, tout au moins au cours de la première demi-heure suivant le prélèvement pendant laquelle le sang a été centrifugé.

Cette étude nous avait cependant semblé nécessaire car P. FINETTI dans sa thèse (1962), la gazométrie selon Van Slyke) a montré l'importance de cette technique de centrifugation anaérobie dans la détermination du CO_2 plasmatique. Il a obtenu par cette méthode des CO_2 plasmatiques plus élevés de 0,56 vol. p.100 que le CO_2 obtenu par centrifugation sous huile de vaseline.

En fait cette perte de CO_2 ne semble pas intervenir de manière fondamentale dans la détermination du pH plasmatique sous réserve de pratiquer le dosage assez rapidement après le

N°	pH du plasma centrifugé sur tubes ordi- naires.	pH du plasma centrifugé sur flacons spé- ciaux.	Δ pH
7	7,390	7,380	- 0,010
9	7,420	7,400	- 0,020
10	7,470	7,470	0
11	7,390	7,380	- 0,010
12	7,350	7,330	- 0,020
13	7,465	7,440	- 0,025
14	7,365	7,365	0
15	7,405	7,405	0
16	7,455	7,455	0
17	7,440	7,435	- 0,005
18	7,435	7,450	+ 0,015
19	7,415	7,405	- 0,010
20	7,385	7,385	0
21	7,410	7,405	- 0,005
	m =		+ 0,00643
	$\frac{S}{\sqrt{n}} =$		0,01008
	e.r. =		0,6379

Tableau 13

Comparaison des pH plasmatiques déterminés après
centrifugation sur tubes ordinaires et
après centrifugation sur fla-
cons spéciaux.

prélèvement vasculaire.

Conclusions :

Il est indiscutable que les sangs conservés au contact de l'air atmosphérique s'alcalinisent d'une façon constante et importante au cours de la première demi-heure. Cette alcalinisation ne peut s'expliquer que par la perte de CO_2 . Elle justifie l'utilisation d'une couche protectrice huileuse lors de tout prélèvement sanguin.

Cette protection est-elle suffisante ?

- En cas de mesure du pH du sang total, elle paraît efficace, puisqu'au bout d'une demi-heure, le pH des sangs prélevés sous huile de vaseline s'est peu modifié et en tout cas dans le sens de l'acidification et non de l'alcalinisation.

- En cas de mesure de pH plasmatique, la centrifugation risque de favoriser la fuite de CO_2 . Cependant nos essais de centrifugation strictement anaérobie n'ont pas prouvé qu'il existait une fuite importante de CO_2 , par dissolution dans l'huile de vaseline, puisqu'il n'y a pas de différence notable entre les pH de sangs centrifugés sur tubes ordinaires et sur tubes spéciaux.

Au total donc, la simple couche d'huile de vaseline paraît être une protection suffisante en pratique courante.

III.

LES ANTICOAGULANTS

=====

Le problème du choix de l'anticoagulant est un des problèmes cruciaux de la mesure du pH du sang total.

En effet l'anticoagulant, qui est indispensable, risque d'entraîner :

- une certaine dilution du sang.
- une modification du pH.

Ce sont ces modifications du pH en fonction de l'anticoagulant que nous avons étudiées. Il nous a également paru intéressant de juger du rôle d'un agent anticoagulant et antiglycolytique : le fluorure de sodium.

Technique :

Les sangs ont été prélevés sous huile de vaseline et immédiatement transférés dans un flacon contenant, sous une couche d'huile de vaseline, l'anticoagulant étudié.

Les dosages ont été fait en double :

- sur le radiometer 4 avec une macroélectrode
- et sur le micro dispositif d'Astrup avec une microélectrode thermostatée.

Les anticoagulants ont été employés aux doses suivantes pour des échantillons de sang de 10 ml :

- 1 goutte d'héparine
- environ 2 à 3 mg. d'oxalate de sodium,
- 15 mg de fluorure de sodium.

Trois séries d'expériences ont été pratiquées : on a dosé immédiatement les pH et observé :

1/ les variations à 22° au bout - d'une demi-heure

1 heure
2 heures
3 heures et
6 heures,

lorsque l'anticoagulant est l'héparine et l'oxalate de sodium.

2/ les variations du pH du - sang hépariné
sang hépariné et fluoré
au bout d'une heure et de 6 heures de conservation :

- au bain marie (38°)
- à la température du laboratoire (22°).
- à la glacière (+ 4°)

3/ La même étude a été faite sur le plasma (centrifugé dans les conditions habituelles) conservé :

- à 38°
- à 22°.

Résultats :

1°) - Variations du pH dans le temps avec différents anticoagulants.

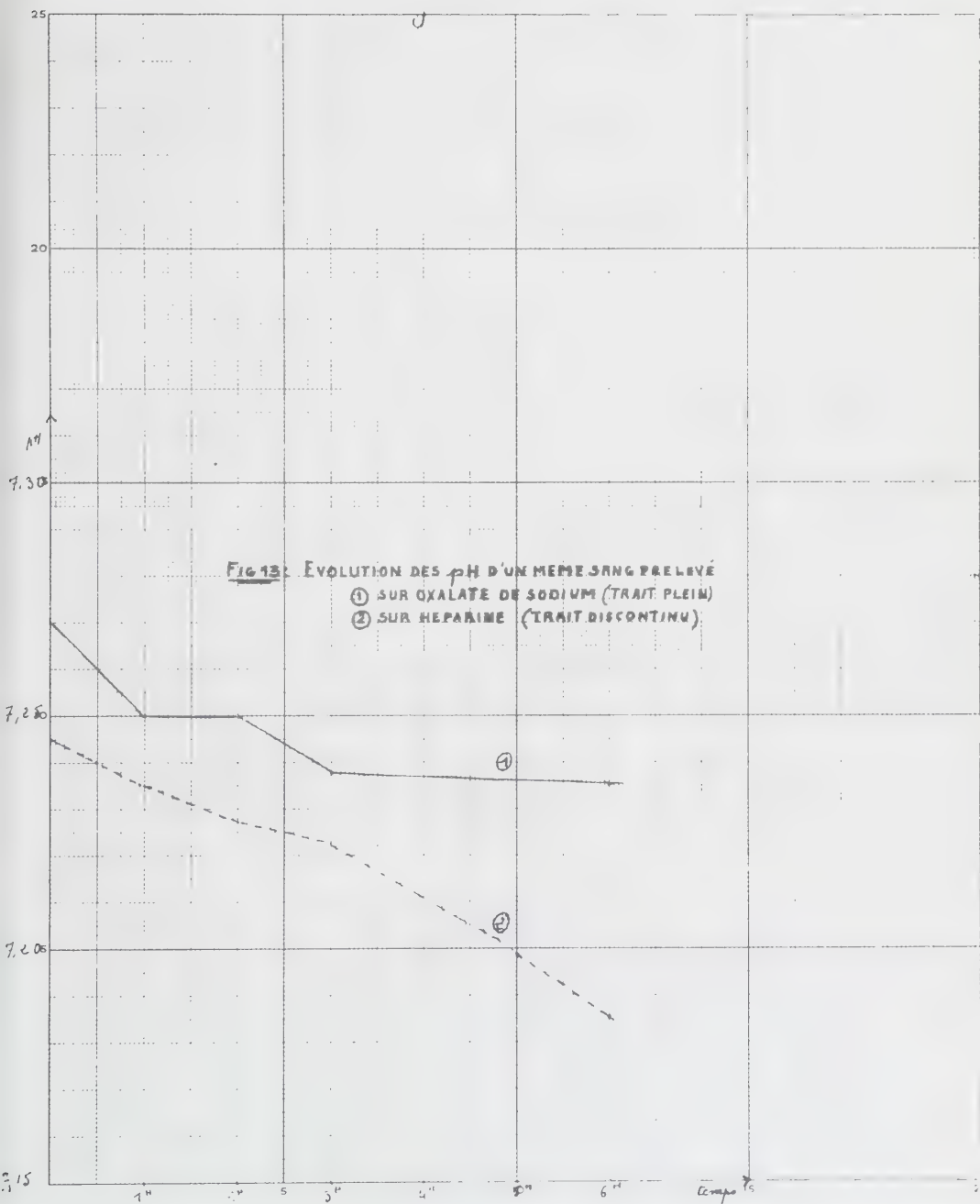
Voici les résultats obtenus :

1 - Au départ, la différence entre les pH des sangs oxalatés et héparinés est de l'ordre de + 0,03. Au bout de 6 heures elle s'est accrue (+ 0,09).

2 - Les différences entre le pH à l'heure donnée et le pH de départ (Δ pH) sont les suivantes :

Tableau 14

Anticoa- gulant	Méthode de dosa- ge	1/2 heure	1 heure	2 heures	3 heures	6 heures
Héparine	en micro dosage	-0,0075	-0,0150	-0,0300	-0,0300	-0,0750
	en macro dosage	-0,0080	-0,0300	-0,0400	-0,0500	-0,0850
	en micro méthode	-0,0075	-0,0125	-0,0100	-0,0275	-0,0200
Oxalate	en macro méthode	-0,0125	-0,0150	-0,0200		-0,0450



3 - A titre d'exemple nous montrons une courbe d'évolution d'un sang tout-à-fait caractéristique. (Fig. 13).

L'étude de ces résultats met en évidence les notions suivantes :

- a) - Un fait bien connu : le sang hépariné est beaucoup plus acide que le sang oxalaté au départ.
- b) - Au cours de la première heure l'évolution du pH par rapport au pH de départ est sensiblement la même quel que soit l'anticoagulant. Mais à la 2^e heure, alors que le sang oxalaté ne s'est pas modifié, on assiste à une nette acidification du sang hépariné.

A la 3^e heure, l'acidification du sang oxalaté s'amorce mais elle restera modérée même à la 6^e heure.

Sur la courbe d'évolution dans le temps prise pour type, on voit nettement :

- l'acidification grossièrement parallèle des pH pendant la première heure (la pente du sang oxalaté est cependant un peu plus rapide que celle de l'hépariné).

- puis la stabilisation du pH du sang oxalaté puisque de la première heure à la 6^e heure le pH ne s'abaissera que de 0,015. Au contraire le pH du sang hépariné continue à chuter d'une façon régulière.

2°) - Comparaison des variations des pH de sangs héparinés et de sangs héparinés et fluorés au bout de 1 heure et au bout de 6 heures de conservation à différentes températures.

Les résultats sont consignés sur le tableau (15) où ΔpH_m représente la différence moyenne entre le pH au bout d'une heure et de 6 heures de conservation et le pH initial.

Tableau 15

Température de conservation	ΔpH_m 1 heure		ΔpH_m 6 heures	
	sang hépariné	Sang fluoré et hépariné	Sang hépariné	Sang fluoré et hépariné
38 °	-0,12	+0,06	-0,35	-0,15
22 °	-0,02	-0,01	-0,10	+0,075
+ 4 °	-0,0275	-0,0175	-0,13	-0,0275

3°) - Sur le plasma l'évolution est sensiblement identique à 38 et à 22°.

Tableau 16

Température de conservation.	ΔpH_m 1 heure		ΔpH_m 6 heures	
	Plasma hépariné	Plasma fluoré et hépariné	Plasma hépariné	Plasma fluoré et hépariné.
38 °	-0,175	-0,025	-0,22	+0,01
22 °	-0,105	-0,02	-0,21	+0,005

Il apparaît clairement sur ces tableaux que le fluorure de sodium n'inhibe pas totalement l'acidification du sang.

Si nous étudions l'évolution du pH du sang total à 22°, nous voyons que persiste une période d'acidification initiale mais plus modérée qu'avec l'héparine seule, et que dans un deuxième temps l'évolution se fait vers l'alcalinisation.

Par contre :

- a) - à 4° l'acidification est retrouvée mais discrète à la 6^e heure.
- b) - à 38° dès la première heure le sang tend vers l'alcalinité mais au bout de 6 heures les valeurs virent de nouveau vers l'acidité.

Pour le plasma, l'acidification initiale est plus importante au bout d'une heure et le pH ne s'élève que d'une façon minime au bout de 6 heures à une température de 22°.

Discussion :

1 - Immédiatement, la différence de pH entre les sangs conservés sous héparine et sous oxalate n'est pas négligeable.

Cette différence est-elle liée à l'alcalinisation du sang par oxalate ou à l'acidification par l'héparine ?

SEVERINGHAUS, STUPFEL, BRADLEY jugent que l'oxalate à condition d'employer le minimum nécessaire n'entraîne pas de modification mesurable.

Par contre SAUNIER, TUFIK-SIMAO et COLAS pensent

qu'il n'est pas exclu que l'addition de sel de sodium sous forme cristallisée puisse entraîner de variations de pH.

SIGAARD ANDERSEN a étudié le rôle de l'héparine. Il pense que celle-ci peut agir de deux façons :

- a - en entraînant une dilution du sang lorsque l'espace mort des seringues est rempli d'héparine.

Il a calculé que l'espace mort d'une seringue de 20 cc représente 2 à 3 % du volume maximum. Or une dilution de 12 à 13 % du sang avec du sérum physiologique paraît n'entraîner qu'une élévation du pH de 0,006. Le rôle de la dilution semble donc très discret.

- b - en acidifiant le sang ; pour une concentration de 1 mg/ml il a obtenu une chute du pH de 0,003.

YOSHIMURA ainsi que SEVERINGHAUS, STUPFEL et BRADLEY pensent de leur côté que le rôle sur l'équilibre acido-basique est minime pour une concentration de 1 mg/ml, mais SANZ insiste sur la nécessité de rejeter l'héparine qui pour lui entraînerait une acidification considérable.

SAUNIER, TUFIK-SIMAO et COLAS pensent également que le pH bas des sangs héparinés témoigne peut être dès la 1ère mesure d'un certain degré de glycolyse.

A notre avis il est incontestable qu'au delà de la première heure la chute du pH du sang hépariné est beaucoup trop importante pour qu'on puisse songer à faire des dosages de sang recueillis de cette manière. Mais nous avons vu les multiples raisons qui font rejeter la mesure du pH sanguin au delà de cette limite.

Par contre, pendant la première heure le sang hépariné ne nous paraît pas subir plus de modifications (bien au contraire) que le sang oxalaté. Nous continuons donc à utiliser cet anticoagulant en connaissant bien cependant l'acidification initiale au temps 0 du sang hépariné. Mais il importe dans ces conditions d'utiliser toujours cet anticoagulant pour établir un pH normal de référence qui sera sensiblement plus acide (de 0,03 unité pH) que celui des laboratoires qui utilisent l'oxalate.

2 - Comment expliquer le rôle du fluorure de sodium ? Pour SIGAARD ANDERSEN ce rôle doit être étudié sous deux angles :

- a) la simple adjonction de sel modifie le pH (1 mg par ml de sang entraînerait une élévation de 0,006).

Nous avons peu étudié ce problème mais trouvé un chiffre voisin de 0,007.

(Pour SEVERINGHAUS, STUPFEL, BRADLEY les concentrations nécessaires pour inhiber la glycolyse abaisseraient le pK de 0,01).

b) L'étude de l'évolution dans le temps montre, lorsqu'on utilise le fluorure de sodium à la concentration de 1 mg/ml, à 38° :

- après une phase d'acidification précoce (1/2 heure après le prélèvement).

- une alcalinisation de l'ordre de 0,17 à 0,19 en 3 heures.

- puis les valeurs virent vers l'acidité

Par contre à 22° la première phase d'acidification est retardée ; elle existe encore 1 heure à 1 heure 1/2 après le prélèvement.

Ces conclusions sont tout-à-fait parallèles aux résultats que nous avons obtenus

- A 38° sur le sang total nous avons déjà une élévation du pH au bout d'une heure à laquelle fait suite une phase d'acidification.

- A 22° l'alcalinisation notée au bout de 6 heures a succédé à une phase d'acidification.

- A + 4° l'acidification a été prolongée, retrouvée encore au bout de 6 heures.

Mais comment expliquer ces variations ?

SIGAARD ANDERSEN pense que l'acidification précoce est liée à d'autres processus que la glycolyse qui ne seraient pas inhibés par le fluorure de sodium. Pour lui l'alcalinisation semble dépendre de la présence de globules rouges intacts (il a en effet dosé le pH du sang hémolysé et de suspensions de leucocytes) et doit être due à une redistribution des acides et des bases entre globules rouges et plasma. Pour tenter d'élucider ceci, il a étudié la répartition du sodium et du potassium dans le sang. En effet, le potassium s'échapperait des globules, dans le courant des trois premières heures, tandis que le sodium quitterait le plasma pour pénétrer dans les hématies. Par contre, dans le sang non fluoré, les concentrations de sodium et potassium resteraient constantes.

Mais cette théorie n'explique pas les résultats que nous avons obtenus pour le plasma. Comment se fait-il en effet que le

pH du plasma s'élève lui aussi au bout de 6 heures ? Certes cette élévation est modérée par rapport au pH initial mais elle tranche avec l'acidification importante du plasma uniquement hépariné.

Au total, les modifications du pH du sang fluoré au bout de 6 heures sont minimales par rapport au pH initial ; il semble cependant préférable, à condition de faire le dosage rapidement, d'utiliser l'héparine seule. En effet, l'évolution du pH du sang hépariné n'est pas très importante au cours de la première heure si le sang est conservé à la température du laboratoire ou à la glacière, mais surtout elle se fait toujours dans le même sens, vers une acidification progressive, alors que l'évolution sous fluorure est très complexe.

Conclusions :

1) La nature de l'anticoagulant joue sur la mesure du pH même immédiatement. Des comparaisons de résultats ne peuvent donc être valables que pour un même anticoagulant. Nous n'avons pas pu déterminer quel anticoagulant apporte le moins de modification à la valeur vraie du pH sanguin.

2) La mesure du pH du sang doit être effectuée dans la première demi-heure suivant le prélèvement. Au-delà de ce délai, les variations du pH ne sont plus négligeables, quel que soit l'anticoagulant utilisé.

3) Pendant cette première demi-heure, les modifications du pH sont sensiblement de même ordre pour les divers anticoagulants.

4) Si pour une raison quelconque on est obligé de conserver le sang avant de faire la mesure, il semble préférable d'utiliser l'oxalate car au-delà d'une heure de conservation le sang seulement hépariné est sujet à une forte acidification.

5) L'emploi du fluorure de sodium comme antiglycolytique ne nous semble pas justifié pour éviter cette acidification car la courbe d'évolution du pH sanguin sous héparine-fluorure est très complexe.

IV.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE
DE CONSERVATION SUR L'EVOLUTION
DANS LE TEMPS DU pH SANGUIN.

Lors de l'étude de l'effet des anticoagulants nous avons déjà vu que la température a une influence très importante sur l'évolution du pH. L'alcalinisation ou l'acidification est plus ou moins marquée au bout de quelques heures si le sang a été conservé à 38° ou 22° ou à 4°.

Etude expérimentale.

Nous avons établi les différences apparaissant au bout d'une heure entre les pH d'un même sang gardé à la température du laboratoire ou conservé au bain-marie à 38°.

Nos expériences ont porté sur 5 échantillons de sang héparinés et fluorés, prélevés et conservés sous huile de vaseline.

Résultats :

Tableau 17

N°	pH du sang au départ	1 h. à 38°	1 h. à 22°	Δ pH *
31	7,445	7,4975	7,435	- 0,0625
32	7,415	7,465	7,405	- 0,060
33	7,450	7,530	7,450	- 0,080
34	7,4025	7,430	7,395	- 0,035
5	7,375	7,455	7,375	- 0,080
				m - - 0,06

* Δ pH représente la différence entre le pH trouvé après conservation 1 heure à 22° et celui après séjour à 38°.

La même étude a porté sur le plasma des sangs correspondants :

Tableau 18

N°	pH du plasma au départ	1 h. à 38°	1 h. à 22°	Δ pH
31	7,460	7,465	7,4575	- 0,0075
32	7,440	7,405	7,405	0
34	7,440	7,390	7,405	+ 0,015
35	7,410	7,380	7,385	+ 0,005
				m = + 0,003

Discussion :

On voit donc d'une façon très nette l'importance de la température de conservation dans l'étude du sang total. Dès la première heure sont retrouvées des différences de l'ordre de 0,06 entre le sang conservé à 38° et celui maintenu à la température du laboratoire.

Dans ces expériences le pH du sang à 38° a en effet évolué d'une façon importante vers l'alcalinité alors que le sang maintenu à 22° a eu tendance à s'acidifier. Mais on ne peut en tirer aucune conclusion quant à l'évolution d'un sang sous l'influence de la température.

En effet, il s'agit rappelons le de sangs fluorés et l'on a vu que à 22° la phase d'acidification initiale est retardée tandis qu'à 38° l'alcalinité apparaît très rapidement sous l'influence du fluorure de sodium. Nous avons seulement voulu montrer ici les différences considérables qui peuvent être notées au bout d'une heure de conservation dans des conditions thermiques différentes.

Sur le plasma par contre la température semble avoir une influence moindre. Des essais du même type ont été effectués par SIGAARD ANDERSEN qui a essayé de mettre en évidence l'effet de la température sur le sang total hépariné. Cet auteur met en évidence les variations suivantes :

- à 38°	un Δ pH par heure de - 0,066
- à 22° - 24°	" " de - 0,024
- à 0°-4°	" " de - 0,006

Rappelons que l'évolution du sang hépariné au bout d'une heure et de 6 heures de conservation à 38° - 22° et $+4^{\circ}$ a été étudiée au chapitre précédent (Tableau 15).

Nous avons trouvé dans ces expériences des différences encore plus importantes que SIGAARD ANDERSEN à 38° (à savoir un ΔpH_m de - 0,12 à la fin de la première heure).

Par contre à 22° , notre chiffre est voisin : - 0,02. A $+4^{\circ}$ nous avons noté une acidification légèrement plus importante qu'à 22° . Mais ce résultat n'a pas à nos yeux beaucoup de valeur car, si la conservation du sang a été faite à $+4^{\circ}$, nous n'avons pas utilisé de bain de glace pour la mesure par crainte de l'altération des liquides de l'électrode de verre à cette température. La détermination a donc eu lieu à 22° .

Conclusions :

L'évolution du pH sanguin ou plasmatique a été étudié à des températures de conservation différentes :

- le sang hépariné et fluoré a tendance à s'alcaliniser à 38° et s'acidifier à 22° .
- le plasma provenant de sang hépariné et fluoré est moins influencé par la température de conservation.
- le sang simplement hépariné s'acidifie avec le temps et ceci d'une manière d'autant plus importante que la température de conservation est élevée.

Rappelons que l'évolution du sang hépariné au bout d'une heure et de 6 heures de conservation à 38° - 22° et $+4^{\circ}$ a été étudiée au chapitre précédent (Tableau 15).

Nous avons trouvé dans ces expériences des différences encore plus importantes que SIGAARD ANDERSEN à 38° (à savoir un ΔpH_m de - 0,12 à la fin de la première heure).

Par contre à 22° , notre chiffre est voisin : - 0,02. A $+4^{\circ}$ nous avons noté une acidification légèrement plus importante qu'à 22° . Mais ce résultat n'a pas à nos yeux beaucoup de valeur car, si la conservation du sang a été faite à $+4^{\circ}$, nous n'avons pas utilisé de bain de glace pour la mesure par crainte de l'altération des liquides de l'électrode de verre à cette température. La détermination a donc eu lieu à 22° .

Conclusions :

L'évolution du pH sanguin ou plasmatique a été étudié à des températures de conservation différentes :

- le sang hépariné et fluoré a tendance à s'alcaliniser à 38° et s'acidifier à 22° .
- le plasma provenant de sang hépariné et fluoré est moins influencé par la température de conservation.
- le sang simplement hépariné s'acidifie avec le temps et ceci d'une manière d'autant plus importante que la température de conservation est élevée.

V.

COMPARAISON ENTRE LE pH DU PLASMA
ET LE pH DU SANG TOTAL.

Le pH du plasma obtenu à partir du sang total par séparation à une température autre que 38° diffère notablement de ce dernier. C'est là un fait bien connu. Nous avons étudié l'importance de ces différences.

Technique :

Le sang (humain) prélevé dans des seringues héparinées et contenant de l'huile de vaseline (selon la technique habituelle) a été transféré immédiatement après prélèvement

- dans des flacons à prélèvement habituels (héparinés et contenant de l'huile de vaseline)
- et dans des tubes à centrifuger
 - . coniques, ordinaires de 10 ml (héparinés et contenant de l'huile de vaseline).
 - . spéciaux de 15 ml (selon la méthode précédemment décrite de centrifugation strictement anaérobie).

Les tubes à centrifuger ont été portés à la centrifugeuse (1.200 t/min pendant 8 minutes) pour séparer le plasma. Puis les dosages de sang et de plasma ont été effectués en même temps à 38° avec le micro dispositif d'Astrup.

3 séries d'expériences ont été faites :

1) Comparaison entre les pH du sang total et du plasma centrifugé sur tubes ordinaires.

2) Comparaison entre les pH du sang total et du plasma centrifugé sur tubes spéciaux selon la technique strictement anaérobie.

3) Comparaison entre les pH du sang total et du sang centrifugé sur tubes ordinaires et remélangé après centrifugation.

Pour cette dernière série d'expériences nous avons d'abord mesuré : - le pH du sang total

- et le pH du plasma centrifugé sur tubes ordinaires.

Puis nous avons remélangé, par agitation avec une baguette de verre, plasma et globules et déterminé le pH de ce sang remélangé (la cause d'erreur liée au prélèvement d'un peu de plasma pour la mesure est minime puisque nous avons utilisé pour cette étude le micro-dosage).

Résultats :

1 - Comparaison entre les pH du sang total et du plasma centrifugé sur tubes ordinaires.

(Tableau 19)

Δ pH représente la différence entre les pH du plasma et du sang total.

On voit sur ce tableau, que le sang total est nettement plus acide que le plasma.

Dans 7 cas (sur 34) cependant le pH du plasma s'est avéré inférieur à celui du sang total.

Mais dans 4 cas il s'agissait de pH particulièrement acides (inférieurs à 7,26) et dans 2 cas de pH très élevés (supérieurs à 7,45).

L'analyse statistique de ces résultats permet de préciser que l'écart moyen Δ pH est de + 0,0158.

L'écart réduit de 2,517 permet d'affirmer que la différence est hautement significative (à un seuil de P compris entre 0,01 et 0,02).

2 - Comparaison entre les pH du sang total et du plasma centrifugé sur tubes spéciaux selon la technique strictement anaérobie.

Ces résultats sont consignés sur le tableau (20).

N°	pH du sang total	pH du plasma centrifugé sur tubes ordinaires.	Δ pH
1	7,320	7,370	+ 0,050
2	7,320	7,370	+ 0,050
3	7,480	7,510	+ 0,030
4	7,360	7,395	+ 0,035
5	7,485	7,4175	- 0,0675
6	7,225	7,255	+ 0,030
7	7,3925	7,390	- 0,0025
9	7,395	7,420	+ 0,025
10	7,445	7,470	+ 0,025
11	7,360	7,390	+ 0,030
12	7,305	7,350	+ 0,045
13	7,440	7,465	+ 0,025
14	7,335	7,365	+ 0,030
15	7,390	7,405	+ 0,015
16	7,420	7,455	+ 0,035
17	7,405	7,440	+ 0,035
18	7,420	7,435	+ 0,015
19	7,355	7,415	+ 0,060
20	7,355	7,385	+ 0,030
21	7,340	7,410	+ 0,070
23	7,260	7,240	- 0,0200
24	7,170	7,0525	- 0,1175
25	7,405	7,410	+ 0,005
26	7,080	7,070	- 0,0100
27	7,155	7,100	- 0,0550
28	7,455	7,430	- 0,0250
29	7,450	7,450	0
30	7,360	7,395	+ 0,035
31	7,445	7,460	+ 0,015
32	7,417	7,440	+ 0,023
33	7,450	7,465	+ 0,015
34	7,4025	7,440	+ 0,0375
35	7,375	7,410	+ 0,035
36	7,435	7,475	+ 0,040
m =			+ 0,0158
$\frac{S}{\sqrt{n}}$ =			0,0062755
e.r. =			2,517

Tableau 19.

Comparaison entre le pH du sang total et du plasma centrifugés sur tubes ordinaires.

Δ pH représente la différence entre le pH du plasma après centrifugation sur tubes spéciaux et le pH du sang total.

a) - Dans 15 cas sur 16 le pH du plasma s'est avéré plus élevé que le pH du sang total. Il est à souligner que les pH étudiés étaient compris dans une zone allant de 7,335 à 7,445, c'est-à-dire proche des limites physiologiques.

N°	pH du sang total	pH du plasma centrifugé sur flacons spéciaux.	Δ pH
7	7,3925	7,380	- 0,0125
8	7,3725	7,410	+ 0,0375
9	7,395	7,400	+ 0,005
10	7,445	7,470	+ 0,025
11	7,360	7,380	+ 0,020
12	7,305	7,330	+ 0,025
13	7,440	7,440	0
14	7,335	7,365	+ 0,030
15	7,390	7,405	+ 0,015
16	7,420	7,455	+ 0,035
17	7,405	7,435	+ 0,030
18	7,420	7,450	+ 0,030
19	7,355	7,405	+ 0,050
20	7,355	7,385	+ 0,030
21	7,340	7,405	+ 0,065
22	7,3825	7,385	+ 0,0025
m =			+ 0,0242
$\frac{S}{\sqrt{n}}$ =			0,00485
e.r. =			4,9896

Tableau 20.

Comparaison entre les pH du sang total et du plasma centrifugé sur flacons spéciaux.

L'analyse statistique des résultats donne un écart moyen Δ pH de + 0,0242 ; l'écart réduit de 4,9896 prouve la signification de cette différence à un seuil de P inférieur à 0,01.

b) - Si l'on compare les résultats de ces deux séries d'expériences on constate que la différence entre le pH du sang total et le pH du plasma est un peu moins marquée lorsqu'on utilise une centrifugation strictement anaérobie, mais l'étude statistique faite au chapitre recueil et conservation du sang n'a pas montré de différence significative.

3 - Comparaison entre les pH du sang total et du plasma centrifugé sur tube ordinaire et remélangé après centrifugation.

Cette étude a porté sur 8 déterminations. Voici les résultats obtenus tableau (21).

A pH représente la différence entre le pH du sang remélangé et le pH du sang total.

Dans 7 cas la différence entre pH de sang remélangé et sang total est inférieure ou égale à $\pm 0,01$ unité pH donc sans sa leur compte tenu de la précision de nos appareils de mesure.

L'écart moyen est de $-0,0043$ et l'écart réduit de $1,917$ permet de dire que le seuil de P est compris entre $0,05$ et $0,10$. La différence n'est donc pas très significative.

Discussion :

1) le pH du plasma est plus élevé que celui du sang total c'est un fait indiscutable.

SEVERINGHAUS, STUPFEL, BRADLEY évaluent la différence à $0,01$. SIGAARD ANDERSEN à $0,01 \pm 0,005$ pour un pont de CLK saturé. Ce chiffre est voisin de notre estimation lorsque la centrifugation est faite sur tubes ordinaires.

2) On pourrait penser que cette alcalinité du plasma par rapport au sang total est liée à la perte de CO_2 au cours de la centrifugation.

Dans ce cas, notre deuxième série d'expériences, avec technique de centrifugation strictement anaérobie, devrait montrer des différences moindres entre le pH du sang total et du plasma.

Or l'étude statistique a montré l'existence d'une différence incontestable ($\Delta \text{pH m} = +0,024 \pm 0,010$).

Notre troisième série d'expériences a également confirmé qu'il n'y avait pas de perte de CO_2 importante au cours de la

centrifugation puisque le sang centrifugé et remélangé a un pH peu différent du sang total initial.

N°	pH du sang total	pH du plasma centrifugé sur tubes ordinaires	pH sang remélangé	pH sang remélangé sang total.
29	7,450	7,450	7,435	- 0,015
30	7,360	7,395	7,360	0
31	7,445	7,460	7,435	- 0,010
32	7,417	7,440	7,410	- 0,007
33	7,450	7,465	7,450	0
34	7,4025	7,440	7,40	- 0,0025
35	7,375	7,410	7,370	- 0,005
36	7,435	7,435	7,440	+ 0,005
m =				- 0,0043
$\frac{S}{\sqrt{n}}$ =				0,002243
e.r. =				1,917

Tableau 21

Comparaison entre le pH du sang total et le pH du sang centrifugé remélangé.

3) ROSENTHAL a établi une relation entre le pH du sang total et du plasma.

$$\text{pH}_{38^\circ} \text{ du sang} = \text{pH plasma}_{tm} - 0,0118 (38^\circ - tm) - 0,0029 (38^\circ - tc)$$

où tc est la température de centrifugation et tm la température à laquelle a été effectuée la mesure.

Dans nos expériences les mesures ont été faites à 38° (ce qui élimine donc le premier facteur de correction).

Donc le pH à 38° du sang devrait être égal à

$$\text{pH plasma} - 0,0029 (38^\circ - t_c).$$

La température de notre centrifugeuse étant incontrôlable, nous n'avons pu vérifier ce coefficient. Cependant si la température de centrifugation joue un rôle important comment expliquer que le sang remélangé ait un pH voisin du sang total initial ?

4) Puisque la perte de CO_2 et la séparation du plasma à une température autre que 38° semblent être un facteur négligeable, qu'elle est la cause de la différence de pH plasma-sang total ? Est-ce l'effet de suspension des globules rouges ?

JENNY, NIELSEN, COLEMAN et WILLIAMS (1950) pensent que le pH est trop bas dans les solutions colloïdales du fait de l'action des particules colloïdales sur le potentiel de jonction.

SIGARRD ANDERSEN a étudié les différences avec des ponts de KCl saturé, de KCl 0,15 M et de NaCl 0,15 M. Il a comparé le pH du plasma aux pH de globules concentrés et constaté :

a - qu'avec un pont de KCl saturé les globules concentrés ont un pH encore plus acide que le sang total.

b - qu'avec des ponts de NaCl et de KCl 0,15 M les différences entre plasma - sang total s'amenuisent considérablement.

Il en conclut donc que les globules rouges n'affectent ni la membrane de verre ni le potentiel de jonction quand ils ne sont pas hémolysés.

Personnellement nous n'avons pas l'expérience de ponts autres que celui constitué par une solution saturée de KCl.

Conclusions :

1 - Le plasma est plus alcalin que le sang total. Nous évaluons la différence à 0,015.

2 - Cette alcalinité du plasma n'est pas liée à la perte de CO_2 au cours de la centrifugation.

3 - Avec nos appareils de mesure, la température de centrifugation ne semble pas jouer un rôle appréciable sur la différence pH plasma - pH sang total.

4 - Nous nous rallions donc à l'opinion de SIGAARD ANDERSEN qui juge que cette différence est liée à "l'effet des globules rouges" au niveau de la jonction sang - KCl hypertonique.

VI.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DE MESURE SUR LE pH.

(Etude critique du coefficient de Rosenthal).

Le pH du sang variant considérablement avec la température il est nécessaire de le déterminer à la température du corps humain. Certains dispositifs de thermostatisation permettent d'effectuer les mesures à cette température, mais bien souvent le pH est déterminé à température ambiante, la valeur mesurée étant ramenée à la température du corps par calcul. En effet, en 1947 ROSENTHAL a établi un coefficient qui permet de rapporter à la température du corps le pH sanguin mesuré à température ambiante. La valeur du coefficient proposé par ROSENTHAL est différente pour le sang total et pour le plasma, pour le sang humain et pour le sang des autres espèces. Nous avons cherché à confirmer la valeur du coefficient de ROSENTHAL en étudiant particulièrement :

- le sang total humain
- le plasma humain
- le sang total de chien

et nous exposons dans ce chapitre les résultats obtenus pour les différents cas envisagés.

1 - Méthodes : Nous avons simultanément mesuré le pH d'échantillons sanguins à température ambiante et à la température du corps. Le sang analysé est dans tous les cas d'origine artérielle, le prélèvement strictement anaérobie, l'anticoagulant utilisé étant toujours l'héparine. Les déterminations du pH ont été effectuées sur un même flacon de prélèvement et au même moment au moyen

- d'une part : d'une micro-électrode de verre thermostatée à 38°.
- d'autre part : d'une macro-électrode de verre à température ambiante, le pH mesuré à cette température étant ramené à 38° par l'équation de ROSENTHAL.

Bien que les électrodes et les appareils de mesure utilisés soient différents : micro-dispositif d'Astrup et pH-mètre Radiometer type 4, cette comparaison nous a semblé possible, après nous être assuré de la concordance des résultats obtenus, au moyen de ces deux pH-mètres, à température ambiante.

2 - Résultats.

A - Pour le sang total humain le coefficient établi par ROSENTHAL a une valeur de 0,0147, et le pH mesuré à la température du laboratoire est ramené à 38° par application de la formule :

$$\text{pH}_{38^\circ} = \text{pH}_t - 0,0147 (38 - t)$$

où t représente la température à laquelle la détermination est effectuée.

Nous avons comparé les résultats obtenus par ces deux modes de détermination pour une série de 50 mesures que nous rapportons dans le tableau (22). La 4^e colonne du tableau, Δ pH représente la différence entre le pH ramené à 38° par le calcul et le pH lu à 38°.

Dans cette série de 50 déterminations couplées, où le pH est compris entre 7,13 et 7,53 nous constatons que :

- dans 12 cas il n'existe aucune différence entre les 2 résultats.
- dans 19 cas cette différence est inférieure à 0,01 unité pH, c'est-à-dire pratiquement négligeable compte tenu de la précision des appareils.
- dans 15 autres cas la différence est comprise entre 0,01 et 0,02 unités pH mais elle se situe tantôt en plus, tantôt en moins.
- dans 4 cas seulement la différence est importante, allant de 0,03 à 0,05 unités pH.

L'analyse statistique globale de ces résultats permet de préciser que l'écart moyen Δ pH est de $-0,00035 \pm 0,0039$. L'écart réduit de valeur très faible (e.r. = 0,178) prouve qu'il n'y a pas de différence significative entre ces deux modes de détermination. Ce résultat confirme la valeur du coefficient de ROSENTHAL dans la mesure du pH du sang total humain.

N°	pH mesuré à 38° (micro dispositif d'Astrup)	pH mesuré à T° ambiante ramené à 38° par le coefficient de Rosenthal	Δ pH
I01	7,300	7,300	0
I02	7,395	7,390	- 0,0050
I03	7,220	7,235	+ 0,0050
I04	7,385	7,390	+ 0,0050
I05	7,320	7,320	0
I06	7,530	7,525	- 0,0050
I07	7,350	7,335	- 0,0150
I08	7,3725	7,370	- 0,0025
I09	7,295	7,295	0
I10	7,300	7,285	- 0,0150
I11	7,330	7,335	+ 0,0050
I12	7,335	7,320	- 0,0150
I13	7,3775	7,375	- 0,0025
I14	7,330	7,325	- 0,0050
I15	7,410	7,410	0
I16	7,400	7,395	- 0,0050
I17	7,230	7,235	+ 0,0050
I18	7,300	7,300	0
I19	7,395	7,390	- 0,0050
I20	7,220	7,235	+ 0,0150
I21	7,385	7,390	+ 0,0050
I22	7,420	7,420	0
I23	7,350	7,335	- 0,0150
I24	7,2925	7,290	- 0,0025
I25	7,140	7,135	- 0,0050
I26	7,2425	7,245	+ 0,0025
I27	7,400	7,450	+ 0,0500
I28	7,3325	7,345	+ 0,0125
I29	7,330	7,335	+ 0,0050
I30	7,460	7,445	- 0,0150
I31	7,380	7,365	- 0,0150
I32	7,320	7,305	- 0,0150
I61	7,420	7,420	0
I62	7,450	7,470	+ 0,0200
I63	7,4025	7,395	- 0,0075
I64	7,375	7,375	0
I65	7,435	7,400	- 0,0350
I69	7,165	7,175	+ 0,0100
I60	7,2625	7,275	+ 0,0125
I67	7,410	7,410	0
I69	7,450	7,445	- 0,0150
I70	7,530	7,530	0
I72	7,400	7,370	- 0,0300
I73	7,430	7,445	+ 0,0150
I75	7,370	7,370	0
I76	7,455	7,485	+ 0,0300
I78	7,375	7,375	0
I80	7,440	7,445	+ 0,0050
I81	7,385	7,380	- 0,0050
I83	7,395	7,400	+ 0,0050

m	- 0,00035
$\frac{S}{\sqrt{n}}$	0,00196
e.r.	0,178

Tableau 22

Etude du coefficient de Rosenthal pour le sang total humain.

Dans cette série, pour le pH déterminé au moyen d'une électrode de verre non thermostatée, les différentes mesures ont été faites à des températures variables. Nous avons essayé de préciser si la grandeur de l'écart entre les deux méthodes est liée à la température à laquelle s'effectue la mesure (température de jonction). Nous avons donc groupé les résultats obtenus pour les différentes températures et calculé le Δ pH moyen pour chacune de ces températures (tableau 23). Nous constatons que le Δ pH moyen est variable pour les différentes températures. La figure (14) représente graphiquement ces résultats : il semble exister une relation proche de la linéarité entre la température de jonction et le Δ pH moyen. A partir de ces points expérimentaux, l'équation de la droite la plus représentative a été calculée par la méthode des moindres carrés et donne :

$$\Delta \text{ pH} = - 0,0088 t + 0,2148.$$

Un tel calcul était permis par la haute signification (seuil de $P < 0,01$ avec $n - 2 = 2$ degrés de liberté) du coefficient de corrélation entre Δ pH et t : $r = 0,9939$.

La construction de cette droite permet de constater que l'écart Δ pH est nul pour une température située entre 24 et 25° .

B - Pour le plasma humain le coefficient de ROSENTHAL est de $0,0118$ et le pH plasmatique mesuré à la température ambiante t est ramené à 38° par application de la formule :

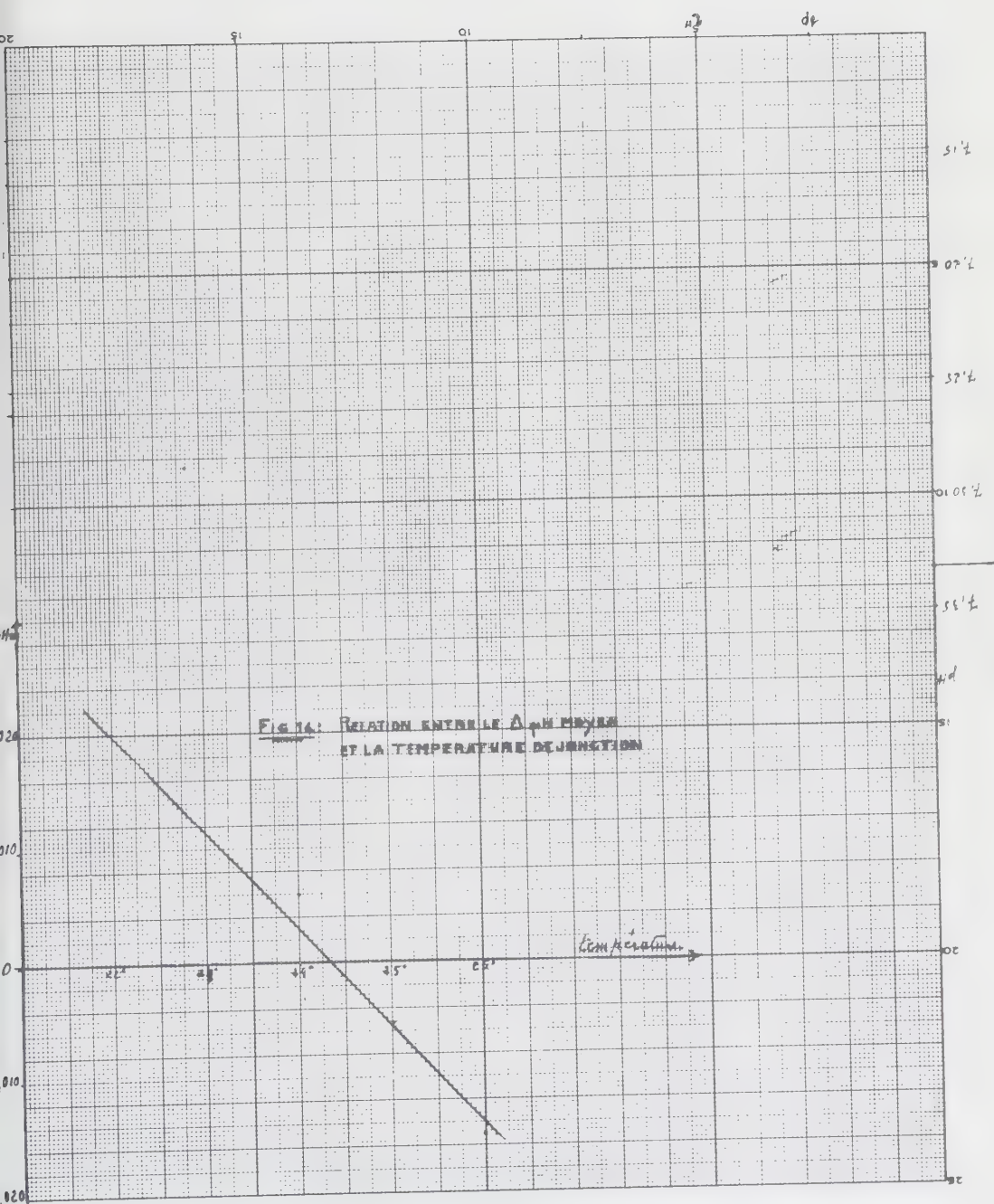
$$\text{pH}_{38^\circ} = \text{pH}_t - 0,0118 (38 - t).$$

Notre série de confrontations comporte 7 déterminations dont nous rapportons les résultats dans le tableau (24). Nous constatons que le pH ramené à 38° par le calcul est :

- dans 4 cas plus élevé que le pH mesuré à 38°
- dans 3 cas sa valeur est inférieure.

L'analyse statistique de ces résultats permet de préciser que l'écart moyen Δ pH est de $- 0,00643 \pm 0,0113$. Sur cette série la différence entre les deux méthodes n'est pas significative (e.r. = $1,140$). La petite taille de l'échantillon ne nous a pas permis d'étudier la grandeur de l'écart en fonction de la température de jonction.

C - Pour le sang total de chien le coefficient déterminé par ROSENTHAL est très voisin ($0,0146$) de celui du sang total humain ; cet auteur propose même d'utiliser une moyenne de $0,0147$ pour le sang total d'homme, chien, chat et lapin. Dans notre série



Température de jonction	Δ pH moyen
22°	+ 0,0200
24°	+ 0,0060
25°	- 0,0055
26°	- 0,0150

Tableau 23.

Δ pH moyen pour différentes températures de jonction. -

	pH mesuré à 38 ° (micro disposi- tif d'Astrup).	pH mesuré à t° ramenée à 38 ° par le coeffi- cient de Rosen- thal.	Δ pH
166	7,440	7,445	+0,005
168	7,465	7,470	+0,005
171	7,440	7,420	-0,020
174	7,410	7,415	+0,005
177	7,385	7,390	+0,005
179	7,475	7,460	-0,015
182	7,370	7,340	-0,030
m			-0,00643
$\frac{S}{\sqrt{n}}$			0,00564
e. r.			1,140

Tableau 24.

Etude du coefficient de ROSENTHAL pour le plasma
humain.

d'expériences nous avons ramené le pH mesuré à la température ambiante t par application de la formule :

$$\text{pH}_{38^\circ} = \text{pH}_t - 0,0146 (38 - t)$$

Nous avons effectué une série de 26 déterminations couplées dont nous rapportons les résultats dans le tableau (25). Dans cet échantillon, où le pH est compris entre 7,17 et 7,61, nous constatons que :

- dans 5 cas il n'existe aucune différence entre les 2 résultats.
- dans 4 cas seulement la valeur du pH mesuré à température ambiante et ramené à 38° par le calcul est supérieure à la valeur directement mesurée à 38° et pour trois d'entre eux la différence est $\leq 0,01$ unité pH.
- dans 17 cas Δ pH est négatif, la différence étant comprise entre $-0,005$ et $-0,035$ unité pH.

L'analyse statistique globale de ces résultats montre qu'ici l'écart moyen Δ pH est de $-0,00779 \pm 0,0056$. L'écart réduit de valeur élevée: e.r. = 2,774 permet d'affirmer qu'il existe une différence significative, entre les 2 modes de détermination, à un seuil de $P < 0,02$.

3 - Discussion :

Pour le sang total et le plasma humain nos résultats sont en accord avec ceux de Rosenthal et la mesure du pH à température ambiante ramenée à 38° par le calcul nous paraît tout-à-fait valable. Cependant nous avons pu voir que la température à laquelle est faite la mesure influence le pH du sang total, la température optima de mesure étant située entre 24 et 25° . SIGAARD ANDERSEN a déjà mis en évidence ce phénomène sur le plasma, il a montré que le pH du plasma décroît de $0,001$ unité pH par degré d'élévation de la température de jonction. Cette variation est très faible, d'autant plus que dans la mesure du pH plasmatique intervient peut-être un autre facteur à savoir la température de centrifugation. Dans notre série d'expériences nous n'avons pas tenu compte de la température de centrifugation cependant nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre le pH plasmatique ramené à 38° par le calcul et le pH du plasma mesuré à 38° .

Par contre nous avons observé une différence entre le pH du sang total de chien mesuré à 38° et celui ramené à 38° à l'aide du coefficient établi par ROSENTHAL. Sur notre série de mesures

nous avons pu calculer ce coefficient et nous l'avons trouvé de - 0,0132. Un travail actuellement en cours, sur la détermination directe de la $p\text{CO}_2$ sanguine, permet, par ailleurs, de penser que le coefficient proposé par ROSENTHAL chez le chien a une valeur trop élevée.

n°	pH mesuré à 38° (micro disposi- tif d'Astrup)	pH mesuré à t° ramenée à 38 ° par le coeffi- cient de Rosen- thal	Δ pH
133	7,355	7,350	-0,0050
134	7,560	7,560	0
135	7,610	7,600	-0,0100
136	7,555	7,545	-0,0100
137	7,300	7,290	-0,0100
138	7,375	7,380	+0,0050
139	7,320	7,315	-0,0050
140	7,310	7,310	0
141	7,330	7,330	0
142	7,390	7,360	-0,0300
143	7,300	7,340	+0,0400
144	7,360	7,340	-0,0200
145	7,300	7,295	-0,0050
146	7,360	7,340	-0,0200
147	7,335	7,300	-0,0350
148	7,335	7,300	-0,0350
149	7,3325	7,320	-0,0125
150	7,320	7,305	-0,0150
151	7,330	7,320	-0,0100
152	7,290	7,290	0
153	7,280	7,280	0
154	7,180	7,175	-0,0050
155	7,360	7,370	+0,0100
156	7,230	7,225	-0,0050
157	7,240	7,245	+0,0050
158	7,305	7,275	-0,0300
m			-0,00779
$\frac{s}{\sqrt{n}}$			0,00281
e.r.			2,774

Tableau 25.

Etude du coefficient de Rosenthal pour le sang total de chien.

4 - Conclusion :

1°/ - la valeur du coefficient de Rosenthal pour le sang total humain nous paraît satisfaisante à la seule condition que la température de mesure soit proche d'une température optimale comprise entre 24 et 25°.

2°/ - le coefficient établi par ROSENTHAL pour le plasma nous semble également valable.

3°/ - pour le sang total de chien nous pensons que la valeur du coefficient proposé par ROSENTHAL est trop élevée et d'après nos mesures nous l'avons évaluée à - 0,0132 par degré centigrade.

ooooooooOoooooooo

CONCLUSIONS GENERALES.

1°/ - Dans le premier chapitre, nous avons brièvement rappelé :

- la définition du pH,
- les relations existant entre le pH et le système acide carbonique/bicarbonates.
- les différents systèmes tampons plasmatiques et globulaires.

2°/ - Dans un deuxième chapitre, nous avons envisagé les différentes méthodes de détermination du pH ainsi que les bases théoriques de sa mesure. Des différents systèmes d'électrodes proposés a été retenu celui utilisant une électrode de verre et une électrode de référence au calomel.

3°/ - Le problème de l'étalonnage de la mesure du pH a été exposé avec la présentation des diverses échelles de pH proposés pour étalonner les appareils électrométriques.

4°/ - Nous avons décrit ensuite les appareillages que nous avons retenus pour établir notre travail expérimental.

Deux types de pH-mètre ont été utilisés. Il s'agit d'appareils de fabrication danoise dont la qualité a été prouvée par une longue pratique au laboratoire de l'Hôpital Claude-Bernard : le pH-mètre Radiometer 4 (dispositif à piles) et le micro dispositif d'Astrup type AMEI. La description et le mode d'emploi de ces appareils ont été précisés.

5°/ - Les techniques générales de notre travail expérimental sont exposées et concernent les prélèvements, les solutions tampons utilisées ainsi que les liquides de jonction.

6°/ - La première partie de notre travail expérimental étudie les solutions étalons tampons. Nous avons pu montrer que :

- a) La solution phthalate acide de K 0,05 M (pH = 4,000 à 15°) possède une stabilité excellente et se conserve bien.

b) Les tampons phosphatés du commerce dont le pH est beaucoup plus proche de celui du sang ou du plasma ne présentent pas la stabilité de la solution phtalate. Une solution tampon étalon commerciale, comme celle présentée par BECKMAN réputée N.B.S. (pH = 7,00 à 25°) ne permet pas de l'utiliser comme tampon primaire. Une autre solution tampon phosphatée commerciale comme celle présentée par l'Instrumentation Lab. Inc. (pH = 7,413 à 25°) est plus stable.

c) Partant de l'étalon phtalate, on trouve constamment des valeurs inférieures aux valeurs théoriques données par les tampons phosphatés.

d) Le tampon borax (pH = 9,196 à 25°) est stable, mais de conservation plus douteuse.

e) Lorsqu'on passe d'une solution de pH 4 à une solution pH 9, la réponse de l'électrode donne des résultats montrant une perte de voltage d'environ 0,03 unité pH, ce qui correspond à un manque de linéarité de l'instrumentation de mesure.

f) Les conclusions pratiques à tirer de ces résultats sont que, dans un laboratoire de biologie médicale, il est nécessaire d'étalonner les tampons phosphatés par un tampon primaire qui doit être la solution phtalate acide de K 0,05 M. Le tampon borax sert de deuxième système de référence.

7° - La deuxième partie expérimentale concerne :

- le recueil et la conservation du sang.
- le problème des anticoagulants.
- l'influence de la température de conservation.

a) La conservation du sang au contact de l'air atmosphérique alcalinise son pH de façon constante et importante au cours de la première demi-heure. Cet effet disparaît si l'on conserve le sang sous huile de vaseline.

En cas de détermination du pH plasmatique la centrifugation risque de favoriser la fuite de CO_2 . Cependant nos essais de centrifugation strictement anaérobie n'ont pas prouvé qu'il existait de modification notable entre les pH de sangs centrifugés sur tubes ordinaires et sur tubes spéciaux. La protection par huile de vaseline semble donc suffisante pour préserver le pH des sangs centrifugés.

b) La nature de l'anticoagulant a un rôle immédiat sur la valeur du pH. Il est difficile de préciser dans ce domaine l'anticoagulant de référence.

Il est indispensable d'effectuer la détermination du pH dans la première demi-heure qui suit le prélèvement. Pendant ce temps les modifications du pH sont sensiblement les mêmes quel que soit l'anticoagulant utilisé.

Si on veut conserver le sang avant la détermination du pH, il semble préférable d'utiliser l'oxalate, car au-delà d'une heure de conservation le sang hépariné est sujet à une forte acidification.

Enfin l'emploi de fluorure de sodium comme antiglycotique semble à rejeter étant donné l'évolution complexe du pH après addition de cet anticoagulant.

c) L'évolution du pH sanguin ou plasmatique a été évaluée à des températures de conservation différentes.

Le sang hépariné et fluoré a tendance à s'alcaliniser à 38° et à s'acidifier à 22° au bout d'une heure de conservation.

Le plasma provenant du sang hépariné et fluoré est moins influencé par la température de conservation.

Le sang simplement hépariné s'acidifie avec le temps et ceci d'une manière d'autant plus importante que la température de conservation est plus élevée.

8° - La troisième partie expérimentale a trait à la comparaison du pH plasmatique par rapport au pH sanguin.

a) Le pH plasmatique est supérieur au pH sanguin. Nous estimons la différence à 0,015.

b) L'alcalinité du plasma par rapport au sang n'est pas liée à une perte de CO_2 au cours de la centrifugation.

c) La température de centrifugation ne semble pas non plus en cause.

Il semble qu'il faille évoquer le rôle du potentiel de jonction pour expliquer les différences entre pH plasmatique et pH sanguin.

9° - Dans la dernière partie de notre travail expérimental nous avons abordé l'étude concernant les coefficients de Rosenthal qui cherchent à établir les corrections de pH suivant la température à laquelle a été effectué le dosage par rapport à la température du sujet exploré.

a) Il a été établi grâce à une étude statistique que la valeur du coefficient de Rosenthal pour le sang total humain paraît satisfaisante à la seule condition que la température de mesure soit proche d'une température optima comprise entre 24 et 25°.

b) Le coefficient établi par Rosenthal pour le plasma nous semble également valable.

c) Pour le sang total de chien nous pensons que la valeur du coefficient proposé par Rosenthal est trop élevée et d'après nos propres mesures doit être évaluée à - 0,0132 par 1° C.

oOo

Vu, le Président de Thèse
Professeur P. MOLLARET

Vu, le Doyen de la Faculté
Professeur L. BINET

Vu et Permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris
J. ROCHE.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BATES, R.G. -
Electrometric pH determination
- John Wiley and Sons Inc. New York 1954.
- 2 - BAUMWOLL SPINNER M. and PETERSEN G. KOKHOLM
Determining the pH of a phosphate buffer solution for
blood measurements.
- Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
13 - 1-7-1961.
- 3 - BENEZECH, C. -
Physico chimie biologique et médicale.
- Masson & Cie Ed. - Paris - 1958.
- 4 - BOITEAU, H. - BOUVEROT, P. - FLANDROIS R. et
CHAMBRIN, M. -
Discussion d'une méthode d'enregistrement continue
du pH sur sang circulant.
- Rev. med. Nancy - mai 1960.
- 5 - BONHOMME, J.E. -
Contribution à l'étude du pH du sang artériel en
pathologie respiratoire.
- Thèse Médecine - Paris 1958.
- 6 - DAVENPORT, H. W. -
A.B.C. de l'équilibre acido-basique.
- Masson & Cie. Ed. Paris - 1962.
- 7 - DILL, D.B. - DALY, C. and FORBES, W.H. -
pK' of serum and red cells.
- J. Biol. Chem. 117 - 569 - 1937.
- 8 - DILL, D.B. and FORBES, W.H. -
Respiratory and metabolic effects of hypothermia.
- Am. J. of Physiol. 132. - 685 - 1941.

- 9 - FINETTI P. -
 La gazométrie selon Van Slyke.
 - Thèse Médecine - Paris 1962.
- 10 - GAMBINO S.R. -
 The value of pK_1'' in the Henderson-Hasselbalch equation.
 - Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
 15 - 104-105 - 1963.
- 11 - HAMBURGER J., RICHEL G., CROSNIER J. -
 Technique de réanimation médicale et contrôle de l'équilibre humoral.
 - Editions médicales Flammarion - Paris 1954.
- 12 - HELFGOTT D. -
 Déterminations indirectes de la pression partielle de CO_2 dans le sang.
 - Thèse Pharmacie - Paris 1963.
- 13 - HUYBRECHTS M. -
 Le pH et sa mesure.
 - Ed. Masson - Paris 1930.
- 14 - JAYLE M.F. et SCHAPIRA G. -
 Précis de chimie physiologique et semeiologique.
 - Masson et Cie Ed. - Paris 1956.
- 15 - JENNY H., NIELSEN T.R., COLEMAN N.T., WILLIAMS D.E. -
 Concerning the measurement of pH ion activities and membrane potentials in colloïd systems.
 - Science - 112 - 164 - 1950.
- 16 - JOURDAN F., FAUCON G. -
 Méthodes pour la mesure du pH du sang circulant.
 - CR. Soc. Biol. 152 - 93 - 1958.
- 17 - MATTOCK G. -
 The accurate measurement of pH.
 - Laboratory Practice - 1957.
- 18 - MATTOCK G. -
 Electrochemical aspects of blood pH measurements.
 - in pH and blood gaz measurements - Woolmer

Ed. Little Brown - Boston - 1959.

- 19 - MOLLARET P., POCIDALO J.J., RAPIN M., et
MONSALLIER J.F. -

Action des variations du pH sanguin sur les échanges
cellulaires extra-cellulaires du phénobarbital.
- C.R. Soc. Biol. 52 - 913-918 - 1958.

- 20 - MORICE E. et CHARTIER F. -

Méthode statistique.
- Imprimerie Nat. Paris - 1954.

- 21 - PIVOTEAU C. -

L'équilibre acido basique en physio-pathologie respi-
ratoire.
- Thèse médecine - Nancy 1958.

- 22 - POCIDALO J.J. et LISSAC J. -

Les compensations respiratoires au cours de l'alca-
lose métabolique.
- Problème de réanimation - G. Doin et Cie Ed.
Paris 1958.

- 23 - POCIDALO J.J. -

Technique des contrôles humoraux de la ventilation
pulmonaire.
- Presse Médicale, 14 - 292-295 - 1957.

- 24 - ROSENTHAL J.B. -

The effect of temperature on the pH of blood and plas-
ma in vitro.
- J. Biol. Chem. - 173 - 25 - 1948.

- 25 - SANZ M.C. -

Personal communication - Geneva 1960 -

- 26 - SAUNIER C., TUFIK-SIMAO A., et COLAS Th.

Influence des divers anticoagulants sur la mesure du
pH du plasma sanguin.
- Rev. Française d'Etudes Clin. et Biol.
vol. VI - n° 5 - mai 1961.

- 27 - SEVERINGHAUS J.W., STUPFEL M. and BRADLEY A.F.

Accuracy of blood pH and $p\text{CO}_2$ determination.
- J. Appl. Physiol. 9 - 189 - 196 - 1956.

- 28 - SEVERINGHAUS J.W., STUPFEL M. and BRADLEY A.F. -
Variation of serum carbonic and pK' with pH and temperature.
- J. Appl. Physiol. 9 - 197 - 1956.
- 29 - SIGAARD ANDERSEN O., ENGEL K., JORGENSEN K. and ASTRUP P. -
A micro method for determination of pH, carbon dioxide tension, base excess and standard bicarbonate in capillary blood.
- Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
12 - 172 - 1960.
- 30 - SIGAARD ANDERSEN O. -
A graphic representation of changes of the acid-base status.
- Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
12 - 311 - 1960.
- 31 - SIGAARD ANDERSEN O. -
Factors affecting the liquid junction potential in electrometric blood pH measurement.
- Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
13 - 205-211 - 1961.
- 32 - SIGAARD ANDERSEN O. -
Sampling and storing of blood for determination of acid base status.
- Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
13 - 196-204 - 1961.
- 33 - STUPFEL M. -
Mesure du pH sanguin.
- Presse Médicale - 67 - 24 - 997-998 et 1111
1959.
- 34 - THOMASON R. -
The use of 5-5 Dimethyl 2-4 oxazolidinedione for determination of intracellular pH.
- Scandinav. J. of Clin. and Lab. Investig.
15 - 45-51 - 1963.
- 35 - WOOLMER R.F. -
A symposium of pH and blood gas measurement.
- Vol. Little Brown Ed. - Boston 1959.

36 - WRIGHT M.P. -

pH measurement with the glass electrode.

- in pH and Blood measurement - Woolmer Ed.
Little Brown - Boston 1959.

37 - YOSHIMURA H. -

Effects of anticoagulants on the pH of the blood.

- J. Biochem. - 22 - 297 - 1935.

oOo



AGEMP
POLYCOPIE

8, rue Dante
PARIS-Ve

Telephone : ODÉon 58-90